

**Univerzita Karlova  
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program:

Molekulární biologie a biochemie organismů

Studijní obor:

Speciální chemicko-biologické obory



**Kristýna Zavadilová**

Úloha dynaminu v lidských patologiích  
The role of dynamin in human pathologies

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Marie Macůrková, Ph.D.

Praha, 2019

Tímto bych ráda poděkovala své školitelce Mgr. Marii Macůrkové, Ph.D. za trpělivost, vstřícnost a cenné rady. Poděkování patří i mé rodině a přátelům za podporu při psaní této bakalářské práce.

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 7.5.2019

Podpis

**Abstrakt:**

Dynamin (DNM) patří do rodiny velkých GTPáz, které se vyznačují schopností hydrolyzovat GTP. Přestože se DNM účastní řady buněčných dějů, jako je například synaptická recyklace, transport z Golgiho aparátu či ovlivnění dynamiky cytoskeletu, jeho nejdůležitější funkcí je odštěpování váčků z plazmatické membrány během endocytózy zprostředkované klatrinem. Lidský DNM je kódován třemi různými geny. Zatímco DNM1 a DNM3 se nejvíce exprimují v buňkách nervového systému, především v mozku, DNM2 se vyskytuje ve všech tkáních těla. Mutace tohoto genu způsobují dvě vrozená nervosvalová onemocnění. Jedná se o autosomálně dominantní typ centronukleární myopatie, která se projevuje atrofií kosterních svalů, a dominantní intermediární typ neuropatie Charcot-Marie-Tooth, která narušuje myelinizaci a přenos signálu v periferním nervovém systému. U myopatie byla zjištěna zvýšená aktivita GTPázy a vyšší oligomerizace DNM2, zatímco u neuropatie byla pozorována snížená aktivita GTPázy a ztráta schopnosti DNM2 vázat fosfolipidy. I přes tyto poznatky není dosud znám mechanismus způsobující tyto dvě onemocnění. Porozumění funkcí DNM v buněčných dějích může napomoci k léčbě výše zmíněných onemocnění.

**Klíčová slova:** Centronukleární myopatie, Charcot-Marie-Tooth syndrom, dynamin, dynamin-2, GTPáza

**Abstract:**

Dynamin (DNM) belongs to the family of large GTPases, which are characterized by their ability to hydrolyse GTP. Although DNM participates in many cell processes such as synaptic recycling, Golgi transport or regulation of cytoskeletal dynamics, its most important function is membrane scission during vesicle budding from the plasma during clathrin-mediated endocytosis. Human DNM is encoded by three different genes. DNM1 and DNM3 are most expressed in the nervous system, particularly in the brain, whereas DNM2 is expressed ubiquitously. Mutations in this gene cause two congenital neuromuscular diseases. One of them is autosomal dominant type of Centronuclear myopathy, manifested by skeletal muscle atrophy, the other is dominant intermediate type of Charcot-Marie-Tooth neuropathy, which affects myelination and neurotransmission in the peripheral nervous system. Myopathy mutations may increase GTPase activity and higher DNM2 oligomerization, while neuropathy mutations may cause decreased GTPase activity and loss of phospholipid binding properties of DNM2. Despite these findings, the mechanism by which DNM2 cause these two diseases is still unknown. By understanding the function of DNM in cell processes can help in outlining therapeutic approaches for the aforementioned diseases.

**Key words:** Centronuclear myopathy, Charcot-Marie-Tooth neuropathy, dynamin, dynamin-2, GTPase

## Seznam zkratek:

ADCNM	Autosomálně dominantní centronukleární myopatie	<u>A</u> utosomal <u>d</u> ominant <u>c</u> entronuclear <u>m</u> yopathy
AMPA	$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-isoxazolpropionová kyselina	$\alpha$ - <u>a</u> mino-3-hydroxy-5- <u>m</u> ethyl-4-isoxazolepropionic <u>a</u> cid
AP	Akční potenciál	<u>A</u> ction <u>p</u> otencial
AP2	Adaptorový protein 2	<u>A</u> daptor <u>p</u> rotein <u>2</u>
ARCNM	Autosomálně recesivní centronukleární myopatie	<u>A</u> utosomal <u>r</u> ecessive <u>c</u> entronuclear <u>m</u> yopathy
Arp2/3	Komplex proteinu 2/3 příbuzný aktinu	<u>A</u> ctin-related <u>p</u> rotein <u>2/3</u> complex
Atg9	Protein 9 související s autofágií	<u>A</u> utophagy-related <u>p</u> rotein <u>9</u>
ATP	Adenosintrifosfát	<u>A</u> denosine <u>t</u> riphosphate
BAR		<u>B</u> IN/ <u>A</u> mphiphysin/ <u>R</u> VS
BIN1	Interaktor tvořící můstek 1	<u>B</u> ridging <u>I</u> ntegrator <u>1</u>
BSE0	Oblast signálního svazku	<u>B</u> undle <u>s</u> ignaling <u>e</u> lement
CCP	Jamky obalené klatrinem	<u>C</u> lathrin-coated <u>p</u> its
CCV	Váček obalený klatrinem	<u>C</u> lathrin-coated <u>v</u> esicle
Cdk1	Cyklin dependentní kináza 1	<u>C</u> yclin <u>d</u> ependent <u>k</u> inase <u>1</u>
CME	Endocytóza zprostředkovaná klatrinem	<u>C</u> lathrin <u>m</u> ediated <u>e</u> ndocytosis
CMT	Charcot-Marie-Tooth	<u>C</u> harcot- <u>M</u> arie- <u>T</u> ooth
CNM	Centronukleární myopatie	<u>C</u> entronuclear <u>m</u> yopathy
CNS	Centrální nervová soustava	<u>C</u> entral <u>n</u> ervous <u>s</u> ystem
CNV	Rychlost nervového přenosu	<u>N</u> erve <u>c</u> onduction <u>v</u> elocity
COS	Původem CV-1 a nesoucí SV40	<u>C</u> V-1 in <u>O</u> rigine and carrying the <u>S</u> V40
DHPR	Dihydropyridinový receptor	<u>D</u> ihydropyridine <u>r</u> eceptor
DI-CMTB	Dominantní intermediární Charcot-Marie-Tooth	<u>D</u> ominant <u>i</u> ntermediate <u>C</u> harcot- <u>M</u> arie- <u>T</u> ooth
DNM	Dynamín	<u>D</u> ynamín
DRPs	Proteiny příbuzné dynaminu	<u>D</u> ynamín <u>r</u> elated <u>p</u> roteins
DSL	Smyčka specifická pro dynamín	<u>D</u> ynamín <u>s</u> pecific <u>l</u> oop
EAPs	Doplňkové proteiny endocytózy	<u>E</u> ndocytic <u>a</u> ccessory <u>p</u> roteins
GD	GTPázová doména	<u>G</u> TPase <u>d</u> omain
GDP	Guanosindifosfát	<u>G</u> uanosine <u>d</u> iphosphate
GED	GTPázová efektorová doména	<u>G</u> TPase <u>e</u> ffector <u>d</u> omain
GTP	Guanosintrifosfát	<u>G</u> uanosine-5'-triphosphate
Hsc70	Příbuzný protein teplotního šoku 71	<u>H</u> eat <u>s</u> hock <u>c</u> ognate <u>71</u>
KO	Knock-outovaný	<u>K</u> nock- <u>o</u> ut
MD	Střední doména	<u>M</u> iddle <u>d</u> omain
MTM1	Myotubularin 1	<u>M</u> yotubularin <u>1</u>
N-WASP	Protein syndromu Wiskott-Aldrich	<u>W</u> iskott- <u>A</u> ldrich <u>s</u> yndrome <u>p</u> rotein
PH	Plekstrin homologický	<u>P</u> leckstrin <u>h</u> omology
PHD	Plekstrin homologická doména	<u>P</u> leckstrin <u>h</u> omology <u>d</u> omain
PI(4)P	Fosfatidylinositol (4)-fosfát	<u>P</u> hosphatidylinositol (4)- <u>p</u> hosphate
PI(4,5)P2	Fosfatidylinositol (4,5)-bisfosfát	<u>P</u> hosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate
PNS	Periferní nervová soustava	<u>P</u> eripheral <u>n</u> ervous <u>s</u> ystem

PRD	Doména bohatá na prolin	<u>P</u> rolin <u>r</u> ich <u>d</u> omain
RYR1	Ryanodinový receptor 1	<u>R</u> yanodine <u>r</u> eceptor <u>1</u>
SH3	SRC 3 homologický	<u>S</u> RC <u>h</u> omology <u>3</u>
SR	Sarkoplazmatické retikulum	<u>S</u> arcoplasmic <u>r</u> eticulum
TTN	Titin	<u>T</u> itin
VL	Variabilní smyčka	<u>V</u> ariable <u>l</u> oop
WAVE	Regulační komplex WAVE	<u>W</u> AVE regulatory complex (WRC)
XLCNM	X vázaná centronukleární myopatie	<u>X</u> - <u>l</u> inked <u>c</u> entronuclear <u>m</u> yopathy

## Obsah

1. Úvod.....	1
2. Nadrodina dynaminů.....	2
3. Charakteristika DNM.....	3
3.1. Struktura DNM.....	4
3.1.1. GD.....	4
3.1.2. BSE.....	5
3.1.3. PRD.....	5
3.1.4. „Stalk oblast“.....	5
3.1.5. PHD.....	6
3.2. Role DNM v buňce.....	6
3.2.1. DNM v rámci transportu.....	6
3.2.2. Interakce DNM s aktinem.....	7
4. Jednotlivé izoformy DNM a jejich funkce.....	9
4.1. DNM1.....	9
4.2. DNM2.....	10
4.3. DNM3.....	12
5. Lidské patologie spojené s DNM2.....	13
5.1. Centronukleární myopatie.....	14
5.1.1. Typy CNM.....	14
5.1.2. Histologie a klinické příznaky CNM.....	15
5.1.3. DNM2 v CNM.....	15
5.2. Syndrom Charcot-Marie-Tooth.....	17
5.2.1. Typy CMT.....	17
5.2.2. Histologie a klinické příznaky CMT.....	17
5.2.3. DNM2 v CMT.....	17
6. Závěr.....	19
7. Použitá literatura.....	20

## 1. Úvod

Jedním z důležitých faktorů ovlivňující buněčnou fyziologii je membránový transport, jenž je dělen na aktivní a pasivní. Aktivní transport oproti tomu pasivnímu vyžaduje pro přenos látek přes buněčnou membránu energii, která vzniká nejčastěji štěpením ATP. Příkladem aktivního transportu je endocytóza, která umožňuje příjem látek z vnějšího prostředí, čímž reguluje množství proteinů a živin, nebo zajišťuje regulaci signálních molekul. Endocytóza probíhá prostřednictvím membránových váčků, jejichž utvoření vyžaduje mnoho endocytických proteinů. Mezi ty patří i dynamin (DNM). DNM je zakládajícím členem nadrodiny dynaminů a jeho charakteristickou vlastností je GTPázová aktivita, tedy schopnost hydrolyzovat guanosintrifosfát (GTP) na guanosindifosfát (GDP). Nejlépe prozkoumanou funkcí DNM je odstrižení vznikajícího váčku od membrány během endocytózy zprostředkované klatrinem (CME).

Novější studie nicméně poukazují i na jiné možné funkce tohoto proteinu. Zajímavou funkcí je například aktivita DNM, respektive jedné z jeho izoform DNM2, v kosterních svalech nebo periferních nervech. Mutace této izoformy, které postihují tyto tkáně, vyvolávají dvě vrozená nervosvalová onemocnění – centronukleární myopatii (CNM) a syndrom Charcot-Marie-Tooth (CMT).

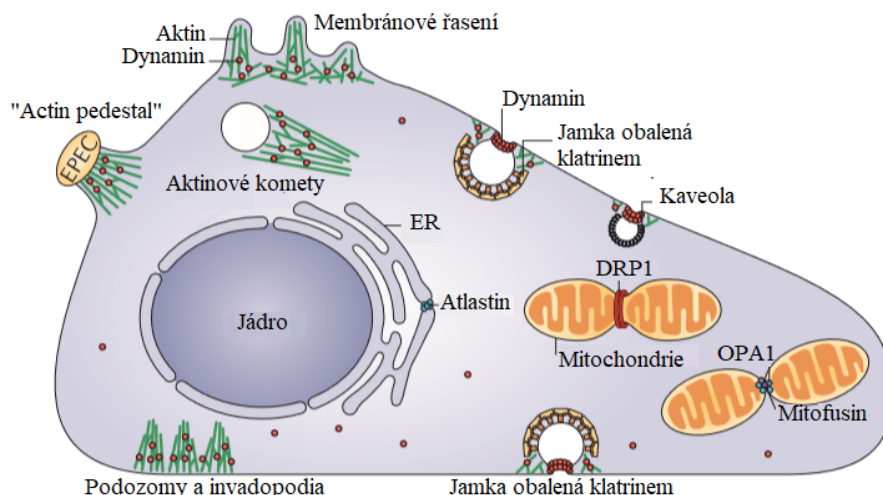
Cílem této práce je shrnutí dosavadních poznatků o DNM se záměrem vytvoření komplexnější představy o jeho vlastnostech a funkci v rámci buňky a buněčných dějů. Zároveň je práce zaměřena na úlohu DNM2 u výše zmíněných onemocnění.



## 2. Nadrodina dynaminů

Do této nadrodiny patří dynaminy (DNM) a proteiny jim příbuzné (DRPs). Mezi DRPs patří například DRP1, DRP2A, DRP3, OPA1, Vps1 nebo mitofusin. DNM a DRPs jsou známy především pro svou schopnost přestavovat membrány. Jsou zodpovědné zejména za štěpení membrán, ale účastní se také fúze membrán nebo tvorby membránových tubulů. Mezi DNM a skupinou DRPs existují určité spojitosti. Obě skupiny využívají podobný katalytický mechanismus založený na hydrolýze GTP, konkrétně na dimerizaci GTPázových domén (GD) a následných konformačních změnách závislých na přítomnosti nukleotidu (Antonny *et al.*, 2016). Další podobností mezi DNM a DRPs je obdobné strukturní uspořádání. Obě skupiny obsahují GTPázovou doménu, střední doménu (MD) a GTPázovou efektorovou doménu (GED). Dynaminy navíc obsahují dvě další domény – PRD (doména bohatá na prolin) a PHD (plekstrin homologická doména) (Heymann & Hinshaw, 2009). Tyto dvě domény jsou důležité pro nasměrování DNM k membráně a jeho hromadění. DRPs pro tyto děje zřejmě využívají alternativní mechanismy (Antonny *et al.*, 2016).

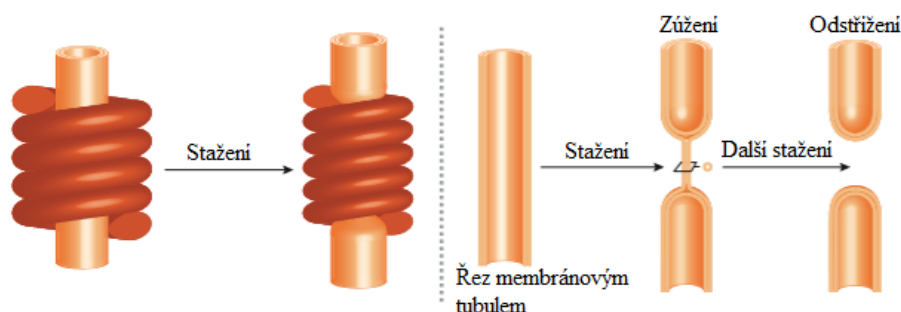
Proteiny z nadrodiny dynaminů jsou v rámci eukaryotické říše vysoce konzervovány (Heymann & Hinshaw, 2009). U rostlin DRPs zastávají funkce například ve váčkovém transportu z Golgiho aparátu do tvořící se buněčné destičky (přepážky vznikající na počátku cytokineze) (Fujimoto *et al.*, 2008), ovlivňují štěpení mitochondrií a peroxizomů (Fujimoto *et al.*, 2009), regulují dynamiku thylakoidů v chloroplastech (Gao *et al.*, 2006) a pravděpodobně jsou schopny ovlivnit i dynamiku CME (Konopka *et al.*, 2008). U kvasinek DRPs napomáhají k odštěpení vakuoly (Peters *et al.*, 2004), regulují splnutí mitochondrií (Sesaki *et al.*, 2003), ale i jejich štěpení (Bleazard *et al.*, 1999). U savců DRPs také ovlivňují štěpení mitochondrií (Smirnova *et al.*, 2001), ale i peroxizomů (Koch *et al.*, 2003; Li & Gould, 2003), regulují velikost endozomů, a tím nejspíš i synaptický přenos (Lomash *et al.*, 2015), a napomáhají při tvorbě tubulární sítě endoplazmatického retikula (Hu *et al.*, 2009). Příklady zapojení DNM a DRPs do buněčných dějů v savčí buňce jsou znázorněny na **Obr. 1**. Zbytek práce se již bude zabývat pouze dynaminem.



**Obr. 1:** Schéma savčí buňky a v ní znázorněny oblasti působení DNM a DRPs. Proteiny nadrodiny dynaminů jsou vyznačeny červeně a F-aktin (polymerizovaná forma aktinu) zeleně. Upraveno dle (Ferguson & De Camilli, 2012).

### 3. Charakteristika DNM

DNM je GTPáza o velikosti 100 kDa, která byla poprvé objevena při izolaci mikrotubulů z telecího mozku (Shpetner & Vallee, 1989). Jeho nejznámější a nejvíce prozkoumanou funkcí je odštěpování váčků během CME (Hinshaw, 2000). Díky svým mechanicko-chemickým vlastnostem je DNM schopen dobře regulovat povrch plazmatické membrány. Nejprve se nahromadí v místě vznikajícího váčku, okolo membránového tubulu. Tam se sestaví do šroubovice, která postupně obklopí membránový krček tvořícího se váčku. Následují konformační změny způsobené hydrolýzou GTP, které vedou k zúžení šroubovice, což vede k úplnému odštěpení endocytického váčku obaleného klatrinem (CCV) (**Obr. 2**) (Hinshaw & Schmid, 1995).



**Obr. 2:** Schéma obklopení membránového tubulu dynaminem. DNM (červeně), který oligomerizuje do tvaru šroubovice, svou aktivitou způsobí zúžení membrány a nakonec i úplné odštěpení. Upraveno dle (Antonny *et al.*, 2016).

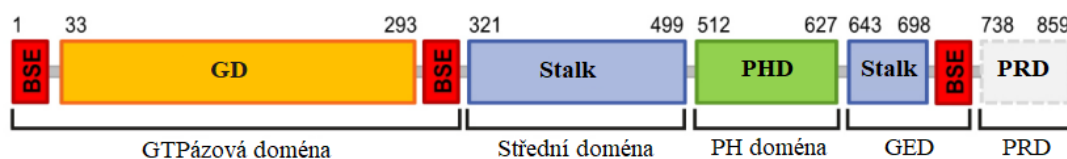
DNM se ale mimo CME účastní i dalších buněčných dějů. Svou aktivitou zasahuje do přenosu nervového signálu, podílí se na průběhu endocytózy pomocí kaveol (Henley *et al.*, 1998), na transportu z Golgiho aparátu (Jones, 1998) a ovlivňuje i dynamiku cytoskeletu (Thompson *et al.*, 2004; Mooren *et al.*, 2009; Gu *et al.*, 2010).

### 3.1. Struktura DNM

Struktura DNM je zkoumána především na DNM1 (Faelber *et al.*, 2011; Ford *et al.*, 2011) a DNM3 (Reubold *et al.*, 2015), ale vzhledem k vysoké sekvenční homologii jednotlivých izoform lze předpokládat stejnou stavbu i u ostatních. DNM se v roztoku vyskytuje převážně jako tetramer skládající se ze dvou anti-paralelních dimerů (Reubold *et al.*, 2015), kde každý dimer má podobu písmene T (Chappie *et al.*, 2011). Tetramer je nejefektivnější struktura pro DNM, jelikož představuje nejmenší stabilní meziprodukt, který může podněcovat sestavování DNM do vyšších struktur. Tetramerizace také podporuje stabilní vazbu DNM s cílovou membránou (Ramachandran *et al.*, 2007).

Monomer DNM lze rozdělit na pět strukturních domén – GD, MD, PHD, GED a PRD (**Obr. 3**). Na N-konci se nachází GTPáza. Její konce společně s C-koncem GED tvoří BSE (oblast signálního svazku) (Chappie *et al.*, 2009). BSE propojuje zmíněnou GD se „stalk oblastí“. „Stalk oblast“ je tvořena shlukem 4 alfa helixů, a to třemi z MD, a N-koncovou částí GED. „Stalk oblast“ zodpovídá za vyšší organizaci DNM (Gao *et al.*, 2010) a navazuje na ni PHD. Monomer je zakončen na C-konci PRD, která vyčnívá, aby mohla interagovat s jinými proteiny.

Patogenní mutace, které budou popsány v poslední kapitole, jsou umístěny především na „stalk oblasti“ a PHD (Böhm *et al.*, 2012).



**Obr. 3:** Schéma uspořádání domén DNM (konkrétně u DNM3). Upraveno dle (Reubold *et al.*, 2015).

#### 3.1.1. GD

V rodině dynaminů je GD ze všech domén nejvíce konzervovaná (Warnock & Schmid, 1996; Urrutia *et al.*, 1997). Obsahuje pět motivů (G1–G5), které jsou schopny vázat nukleotidy, každý motiv pak obsahuje konzervovaný úsek. Jednotlivé motivy se mohou

vyskytovat v literatuře pod jinými názvy – G1 jako P-smyčka nebo Walker A motiv, G2 pod označením switch I či Walker B motiv, G3 jako switch II, a G5 je často označován jako smyčka specifická pro DNM (DSL) (Anand *et al.*, 2016).

Jak již název domény naznačuje, GD je odpovědná za navázání a hydrolýzu GTP. Zvýšením aktivity GTPázy dojde k usnadnění dimerizace dynaminu (Chappie *et al.*, 2010). Jedná se o klasický hydrolytický cyklus, který začíná stimulací GTPázové aktivity, následuje zmíněnou hydrolýzou navázaného GTP na GDP a anorganický fosfát, a pokračuje konformačními změnami. Ty se týkají GD a BSE, kde způsobené změny vyvolají protisměrný posun kruhů dynaminové šroubovice orientovaných proti sobě (Chappie *et al.*, 2011; Mattila *et al.*, 2015). Po disociaci GDP je DNM opět schopný vázat GTP a proces se může opakovat. To ve výsledku způsobuje odštěpení váčku během endocytózy.

### **3.1.2. BSE**

BSE dokáže snímat a přenášet konformační změny řízené nukleotidy z GD na „stalk oblast“. Tyto změny jsou spojené se sestavením DNM a nepřímo stimulují hydrolýzu GTP, jelikož dojde ke konformačním změnám v GD (Chappie *et al.*, 2009). Společně s PHD jsou považovány za mobilní části DNM. BSE, kromě své zmíněné účasti během navázání GTP a jeho hydrolýzy, je schopna udržovat DNM v uzavřeném GDP navázaném stavu. Tato konformace je způsobena překřížením BSE proti GD a umožní DNM se shromáždit na lipidovou membránu (Mattila *et al.*, 2015).

### **3.1.3. PRD**

PRD je bohatá na prolin a arginin a umožňuje interakce s příslušnými proteinovými partnery vazbou na jejich SH3 doménu (Schmid *et al.*, 1998). Také je pozitivním regulátorem GTPázové aktivity DNM (Herskovits *et al.*, 1993; Warnock *et al.*, 1996) a je důležitá při nasměrování DNM na endocytické struktury (Bethoney *et al.*, 2009). Jednotlivé izoformy dynaminu vykazují největší rozdíly právě v této doméně.

### **3.1.4. „Stalk oblast“**

MD a GED jsou v novějších studiích označovány jako „stalk oblast“ a zodpovídají za sestavení DNM. Obě domény mají podobu coiled-coil (Okamoto *et al.*, 1999). GED zastává funkci v regulaci aktivity GTPázy (Muhlberg *et al.*, 1997; Sever *et al.*, 1999) a MD je zodpovědná za tetramerizaci DNM (Ramachandran *et al.*, 2007). U MD je konzervovaná spíše N-koncová část než C-koncová část (Warnock & Schmid, 1996).

„Stalk oblast“ ovlivňuje oligomerizaci v samovolném uspořádání DNM a podílí se na intermolekulárních interakcích (Zhang & Hinshaw, 2001; Ramachandran *et al.*, 2007).

Dimery DNM se skládají přes oblast překřížení dvou „stalk oblastí“, která se označuje jako rozhraní-2 (interface-2) a je velmi konzervovaná (Faelber *et al.*, 2011). Za další oligomerizaci a nejspíš i za šroubovité uspořádání okolo membrány mohou rozhraní-1 (nacházející se na koncích interagujících „stalk oblastí“, proximálním směrem k BSE a GTPázovým doménám) a rozhraní-3 (ležící na distálním konci „stalk“) (Faelber *et al.*, 2011; Ford *et al.*, 2011).

### 3.1.5. PHD

Jádro této domény obsahuje  $\beta$ -sendvič se třemi variabilními smyčkami (VL1, VL2, VL3), které utváří oblast schopnou vázat fosfatidylinositoly, nejčastěji PI(4,5)P<sub>2</sub> (Lemmon & Ferguson, 2000). Smyčky jsou elektrostaticky pozitivně nabitě, čímž umožňují interakci s negativně nabitým povrchem membrány (Ferguson *et al.*, 1994). PHD je tedy schopna navázat se na PI(4,5)P<sub>2</sub>, s menší afinitou i na PI(4)P, a tím ovlivnit aktivitu GTPázy. Vazba fosfatidylinositolů na DNM dokáže stimulovat hydrolýzu GTP (Salim *et al.*, 1996), i přestože je PHD sama o sobě negativním regulátorem aktivity GTPázy (Muhlberg *et al.*, 1997).

PHD se dále účastní procesu štěpení membrány (Bethoney *et al.*, 2009; Ramachandran *et al.*, 2009). Napomáhá totiž ke zvýšení spolupráce podjednotek DNM, což vede k zúžení krčku vznikajícího váčku (Dar & Pucadyil, 2017).

Rozhraní PHD a „stalk oblastí“ napomáhá v oligomerizaci DNM (Faelber *et al.*, 2011), což potvrzuje i studie, dle které je PHD důležitá při tetramerizaci a sestavování DNM do vyšších struktur (Srinivasan *et al.*, 2016). Právě v této oblasti nebo blízko ní se u DNM2 objevují některé mutace, které způsobují dvě onemocnění – CNM a CMT (Durieux *et al.*, 2010). Předpokládá se, že některé mutace v této oblasti vedou ke zvýšení oligomerizace DNM v roztoku (Kenniston & Lemmon, 2010; Faelber *et al.*, 2011).

## 3.2. Role DNM v buňce

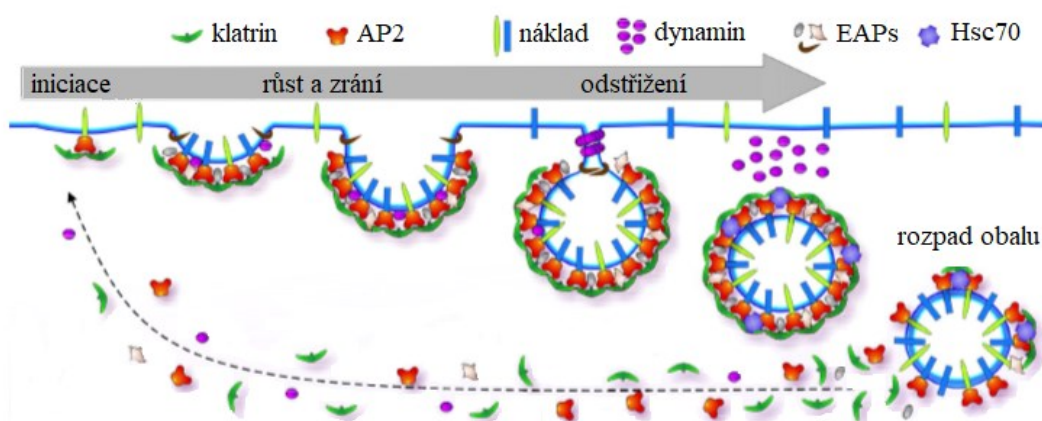
Tato podkapitola je zaměřena především na funkce DNM v buňce. DNM využívá své mechanicko-chemické vlastnosti převážně v dějích souvisejících s vnitrobuněčným transportem. Jedním z hlavních dějů je CME, kde DNM zastává důležitou roli. Zároveň je v kapitole krátce zmíněn i vztah mezi DNM a aktinem, jelikož aktin je úzce propojen s endocytickými ději. Navíc je aktin, jakožto část buněčného cytoskeletu, velmi rozšířený a ovlivňuje mnoho procesů v buňce. Tudíž by výzkum interakce mezi těmito dvěma proteiny mohl v budoucnu vést k zajímavým výsledkům.

### 3.2.1. DNM v rámci transportu

Vnitřní intracelulární prostor savčí buňky je oddělen od vnějšího extracelulárního prostředí plazmatickou membránou, která slouží jako bariéra. Nicméně buňka potřebuje

komunikovat s okolím a využívá k tomu různé mechanismy, mezi něž patří i endocytóza. Při té dochází k transportu látek směrem do buňky prostřednictvím váčků nesoucích náklad, které se odštěpují z plazmatické membrány. Přestože endocytóza může probíhat různými mechanismy a přítomnost DNM byla prokázána u více forem, nejvíce prozkoumanou je CME (Doherty & McMahon, 2009) (**Obr. 4**).

Na začátku CME adaptorový protein 2 (AP2) zahájí přísun klatrinu k plazmatické membráně a na povrchu buňky se začnou tvořit jamky obalné klatrinem (CCP), které obalují náklad. CCP postupně dozrávají, k čemuž napomáhají pomocné endocytické proteiny (EAPs) (Robinson, 2015). Utvořený váček však zatím stále zůstává spojený s membránou buňky. Pro jeho oddělení je potřeba účast DNM. Překřížení „stalk oblastí“ dynaminu zajistí jeho dimerizaci, čímž dojde k uspořádání do šroubovitého polymeru (Faelber *et al.*, 2011). Následují konformační změny vyvolané hydrolýzou GTP, které způsobí zúžení šroubovice. Pro tento mechanismus jsou navrženy dva modely, přičemž správné mohou být oba současně. V prvním modelu je zúžení dosaženo uspořádáním DNM okolo membránového tubulu, následná disociace DNM způsobí sestřih, kdy hydrolýza GTP umožní destabilizaci dimerů přes spojení GTPázových domén. Druhý model využívá hydrolýzu GTP na mechanický pohyb sousedících GD, což umožní předávání otočky helixu (Antonny *et al.*, 2016). Uvolněný váček je následně zbaven klatrinu, k čemuž slouží protein Hsc70. AP2 rozpozná motivy pro roztržení, které jsou obsaženy na povrchových receptorech a váček s nákladem pokračuje do buňky na své cílové místo určení (Robinson, 2015).



**Obr. 4:** Schéma utvoření váčku během CME, kde je znázorněna účast jednotlivých složek v různých fázích tvorby váčku. Upraveno dle (Schmid, 2017).

### 3.2.2. Interakce DNM s aktinem

Bylo prokázáno, že aktin, který utváří cytoskelet buňky, se nachází i v endocytických oblastech, především u CME (Yarar *et al.*, 2005; Ferguson *et al.*, 2009; Boulant *et al.*, 2011;

Taylor *et al.*, 2011), čímž utváří prostor pro propojení DNM a aktinu. Konformační změny cytoskeletálních aktinů jsou důležité pro různé děje a struktury vznikající při CME, včetně sestavení endocytických struktur, zúžení membrány, internalizace klatrinového váčku a laterálního pohybu struktur (Yarar *et al.*, 2005).

DNM se často vyskytuje v endocytických oblastech společně s proteiny regulujícími aktin, jako jsou Arp2/3 komplex nebo N-WASP (Merrifield *et al.*, 2002, 2004, 2005; Taylor *et al.*, 2011). Společný výskyt je z části zprostředkován přes PRD dynaminu díky interakci s SH3 doménou proteinů. Proteiny vázající se na DNM napomáhají k jeho shromažďování v oblasti tvořícího se váčku a tam dále ulehčují polymerizaci dynaminu. Některé proteiny vázající se na DNM přes SH3 doménu obsahují i BAR doménu, která umožňuje navázání proteinu na membránu a v určitých případech je schopna ji i přetvářet (Ferguson *et al.*, 2009).

*In vitro* bylo zjištěno, že DNM je schopen se vázat přímo na aktinová filamenta. Zajímé je, že toto spojení neprobíhá přes PRD, ale přes úsek MD dynaminu. Tím vzniká jakási zpětnovazebná smyčka, kdy krátká aktinová filamenta napomáhají vytvořit dynaminové kruhy a ty následně uvolňují aktin čepičkující proteiny, čímž dochází k prodlužování aktinových filament (Gu *et al.*, 2010). Na základě těchto poznatků vyvstává otázka, zda aktin a jeho vázající proteiny přímo napomáhají DNM v odštěpování váčku.

Zjistilo se, že DNM, N-BAR proteiny a aktin mohou spolupracovat na správném průběhu štěpení, kdy aktin zastává funkci lešení pro DNM za účelem nahromadění v místě štěpení (Taylor *et al.*, 2012; Grassart *et al.*, 2014). Existují důkazy, které naznačují, že pro štěpení zprostředkované dynaminem je zapotřebí síla založená na aktinu, konkrétně síla vyvolaná myosinovými motory nebo prostřednictvím polymerizace aktinu (Itoh *et al.*, 2005; Boulant *et al.*, 2011; Morlot *et al.*, 2012). To částečně potvrzuje efekt v prostředí *in vivo*, kdy snížení napětí membrány vyvolá zpomalení štěpení (Boulant *et al.*, 2011; Morlot *et al.*, 2012). Možností jak dosáhnout tohoto snížení je přímá interakce povrchu DNM s cytoskeletální sítí přes PRD vázající proteiny, jelikož aktinová síť zodpovídá za napětí v membráně.

Nicméně společný výskyt DNM a aktinu se nevztahuje pouze na průběh CME, ale byl doložen i v jiných oblastech obsahujících aktin za přítomnosti aktinových regulátorů jako jsou Arp2/3 komplex, N-WASP a jeho podjednotka WAVE. Mezi tyto struktury patří lamelipodia (Schlunck *et al.*, 2004), invadopodia (Baldassarre *et al.*, 2003) a aktinové komety (Lee & De Camilli, 2002; Orth *et al.*, 2002). U komet je DNM zodpovědný za jejich vytvoření nebo i za jejich rychlost a pohyb (Orth *et al.*, 2002). Společný výskyt aktinu a DNM je dále prokázán v podozomech, kde se DNM vyskytuje v obalu. Ten se skládá z aktinového cytoskeletu a aktin vazebných proteinů, a obklopuje tubulární invaginace plazmatické membrány (Ochoa *et al.*,

2000). DNM ovlivňuje i vytvoření fagozomu u makrofágů, kde napomáhá natažení membrány kolem pohlcujícího se tělesa (Gold *et al.*, 1999). DNM dále utváří kruhové struktury v dorzálním membránovém řasení, k čemuž dochází ve spolupráci s cortactinem (protein vázající aktin), kde společně regulují přestavbu aktinového cytoskeletu v reakci na stimulaci růstovým faktorem (Krueger *et al.*, 2003).

Interakce DNM s aktinem a jeho vazebnými partnery je zajímavá, ale málo probádaná oblast zkoumání a pro úplné porozumění tomuto vztahu bude potřeba více informací.

#### **4. Jednotlivé izoformy DNM a jejich funkce**

U bezobratlých živočichů se exprimuje pouze jeden gen dynaminu a je u nich různě označován, například u *Caenorhabditis elegans* se nazývá *dyn-1* (Clark *et al.*, 1997) a u *Drosophila melanogaster* gen *shibire* (van der Blik & Meyerowitz, 1991). Oproti tomu savčí DNM, tedy i DNM lidský, je kódován třemi různými geny – *DNM1*, *DNM2* a *DNM3*. Proteiny přepisované z těchto genů sdílejí celkovou vysokou homologii, hlavní rozdíl je v tkáňově specifické expresi jednotlivých genů. V jisté míře se DNM exprimuje ve všech tkáních těla, ale pro různé tkáně je vždy typická převažující exprese jedné z izoform (Cao *et al.*, 1998). I přes částečně rozdílné účinky se mohou jednotlivé izoformy do určité míry zastupovat, pokud jedna izoforma chybí nebo je její funkce narušena (Raimondi *et al.*, 2011).

##### **4.1. DNM1**

*DNM1* leží na chromozomu 9 (Newman-Smith *et al.*, 1997) a je nejvíce exprimován v buňkách nervového systému, především v neuronech (Cao *et al.*, 1998; Ferguson *et al.*, 2007). Dynaminy jsou značně exprimovány v synapsích, ačkoliv jejich přesná funkce je stále otázkou. Synapsí je označována oblast propojení dvou neuronů, která zprostředkovává přenos signálních molekul označovaných též jako neurotransmitery. Jedná se o chemický převod vzruchu. Navýšení koncentrace vápenatých iontů v cytosolu presynaptické části, zahájí splynutí váčků, obsahujících neurotransmitery, s plazmatickou membránou. Následně dojde k uvolnění obsahu váčků do synaptické štěrbině, odkud jsou neurotransmitery vychytávány receptory postsynaptické části. Uvolnění váčků způsobí navýšení povrchu plazmatické membrány presynapse. Přebytková plazmatická membrána musí být vstřebána, kvůli udržení stálého buněčného povrchu a obnovení váčkových složek. K tomu slouží CME, kde klatrin a jeho příslušné faktory vychytají proteiny a umožní invaginaci membrány. Následně se DNM sestaví okolo krčku invaginující se jámy a odštěpí váčky, které splynou s časnými endozomy. Tento děj je důležitý pro recyklaci váčků a udržování rovnováhy po proběhlé exocytóze (Cárdenas & Marengo, 2010).



Mechanismy odpovědné za dané funkce jednotlivých izoform v synapsích jsou nejasné, ale nejspíše umožňují synapsím specificky reagovat na různé fyziologické podmínky. Zatím se předpokládá, že DNM1 reguluje synapse během vysoké frekvence akčního potenciálu (AP) (Tanifuji *et al.*, 2013). Účinná regulace je zajištěna přizpůsobením synaptické váčkové recyklace (Ferguson *et al.*, 2007). Naopak DNM3 utváří vlastní endocytickou dráhu nezávisle na frekvenci akčního potenciálu a DNM2 je schopen obou možností (Tanifuji *et al.*, 2013). Ve výsledku DNM1 a DNM3, které jsou považovány za neuronálně specifické izoformy, pravděpodobně regulují endocytózu zejména v synapsích, zatímco DNM2 je aktivní v buňkách mimo nervový systém (Wu *et al.*, 2014).

Dříve se předpokládalo, že DNM1 je vázaný pouze na nervovou tkáň, ale nové studie ukazují, že zasahuje svou funkcí i mimo ni. DNM1 se účastní CME v některých tkáních mimo nervový systém, především v počáteční fázi endocytického transportu (Reis *et al.*, 2015; Schmid, 2017; Srinivasan *et al.*, 2018). Zjistilo se, že je nezbytný k sestavení a zrání CCP v rakovinných buňkách (Reis *et al.*, 2015). Právě nadměrná exprese a aktivita DNM1 u těchto buněk může vést k navýšení jejich odolnosti, jelikož DNM1 prostřednictvím CME pravděpodobně zabráňuje jejich apoptóze (Reis *et al.*, 2017). Další zjištěnou funkcí DNM1 je jeho spolupráce s cortactinem, která umožňuje stabilizovat F-aktin, jenž ovlivňuje správný růst filopodií (Yamada *et al.*, 2013).

Na základě výše zmíněných informací lze říci, že DNM1 svou aktivitou přispívá k normální signalizaci a ke správnému vývoji centrální nervové soustavy (CNS). Mutace v tomto genu způsobují jednu formu epileptické encefalopatie. Jedná se o onemocnění mozku, které se projevuje záchvaty ve formě křečí (Allen *et al.*, 2016). U pacientů s touto formou onemocnění se také často vyskytuje i globální vývojové zpoždění nebo těžké intelektuální postižení (von Spiczak *et al.*, 2017). Mutace způsobující zmíněnou formu encefalopatie jsou lokalizovány v GTPázové doméně a MD dynaminu (Nakashima *et al.*, 2016), a nově byly objeveny i v PHD (Brereton *et al.*, 2018). Avšak přesný patologický mechanismus vyvolávající toto onemocnění není dosud dostatečně prozkoumán.

## 4.2. DNM2

*DNM2* je lokalizován na chromozomu 19 (Züchner *et al.*, 2005) a v určité míře se exprimuje ve všech tkáních těla (Cao *et al.*, 1998). K jeho expresi dochází i v mozku, nicméně tam významně převládají DNM1 a DNM3 (Romeu & Arola, 2014).

Hlavní funkcí DNM2 je regulace CME odštěpením vznikajícího váčku od membrány (Neumann & Schmid, 2013). Jak bylo uvedeno výše, DNM1 se také účastní tohoto děje.

Nicméně se předpokládá, že za odštěpení váčku v buňkách mimo nervový systém je zodpovědný především DNM2, a DNM1 přispívá k iniciaci a zrání CPP během CME pouze v některých tkáních (Liu *et al.*, 2011b; Srinivasan *et al.*, 2018). Majoritní úloha DNM2 během CME v buňkách mimo nervový systém byla prokázána studií, při níž vyřazení *DNM1* z funkce neovlivnilo průběh CME. (Liu *et al.*, 2008). Porovnáním biochemických vlastností DNM1 a DNM2 bylo zjištěno, že DNM1 je účinnější v odštěpování váčku z rovných povrchů a je schopen katalyzovat odštěpení sám, zatímco DNM2 potřebuje spolupráci vazebných partnerů, přičemž ale dokáže štěpit i velmi zvrásněnou membránu. Vysoké zastoupení DNM1 v synapsích je pravděpodobně následek tohoto rozdílu, jelikož svou zmíněnou schopností dokáže lépe a rychleji regulovat CME. Oproti tomu DNM2 zastává funkci podobnou senzoru zakřivení membrány (Liu *et al.*, 2011b) a ve spolupráci s vazebnými partnery dokáže efektivněji odštěpit váček z membrány (Neumann & Schmid, 2013). Za odlišné chování DNM1 a DNM2 během CME je nejspíše zodpovědná PHD, konkrétně substituce v jedné amino kyselině v oblasti VL3. Tyrosin, který je konzervovaný mezi izofomami DNM, je u DNM2 vyměněn za leucin. Což by mohla být příčina rozdílných aktivit souvisejících s nervovým systémem a mimo něj u jednotlivých izoform (Liu *et al.*, 2011b).

Účast DNM2 je zároveň prokázána i v kaveolách, kde napomáhá jejich internalizaci (Henley *et al.*, 1998). Dále ovlivňuje transport z Golgiho aparátu tvorbou váčků na jeho trans straně (Jones, 1998) a reguluje uvolňování hormonů z neuroendokrinních buněk (Yang *et al.*, 2001).

DNM2 je hlavní izoformou DNM účastnící se interakce s aktinem. Vzájemné propojení aktivit těchto dvou proteinů se vyskytuje například v endocytických oblastech (Taylor *et al.*, 2012; Grassart *et al.*, 2014). DNM2 by mohl fungovat i jako regulátor aktinomyosinového cytoskeletu buňky, jelikož je schopný v komplexu s cortactinem přeskupit aktinová vlákna (Mooren *et al.*, 2009).

V modelovém organismu *Caenorhabditis elegans* byla zjištěna přítomnost dynaminu i během cytokineze (Thompson *et al.*, 2002), kde nejspíše napomáhá ke kohezi centrozomu (Thompson *et al.*, 2004). Avšak zajímavým objevem je účast DNM2 během cytokineze i u savců (Liu *et al.*, 2008). Bylo zjištěno, že během mitózy je DNM2 fosforylován Cdk1 (cyklin dependentní kináza 1) a naopak defosforylován kalcineurinem, čímž by mohl ovlivňovat průběh cytokineze (Chircop *et al.*, 2011). Dále bylo pozorováno nahromadění intermediátů v *DNM2* KO dceřiných buňkách a jejich propojení s dlouhými membránovými tubuly, což naznačuje poškození při pozdní fázi cytokineze, nejspíše během štěpení membrány. Nicméně

přesný mechanismus, jak DNM2 ovlivňuje průběh cytokineze, je stále nejasný (Liu *et al.*, 2008).

DNM2 je schopen ovlivňovat i dynamiku mikrotubulů (Tanabe & Takei, 2009). Je přítomen v mitotických buňkách, kde interaguje s mikrotubuly přes PRD. Zároveň i MD má vliv na vstup do fáze mitózy, konkrétně ve spojení s  $\gamma$ -tubulinem (Ishida *et al.*, 2011). DNM2 také reguluje průběh meiózy během spermatogeneze u myši, kde je důležitý pro správný průběh tvorby spermií. Zde je aktivita DNM2 rovněž regulována expresí kinázy Cdk1 a fosfatázy (kalcineurin) (Redgrove *et al.*, 2016).

Mutace v tomto genu vyvolávají dvě vrozená nervosvalová onemocnění. Prvním je CNM způsobující atrofii kosterních svalů (Fischer, 2006) a druhým je syndrom CMT, který narušuje myelinizaci periferních nervů (Züchner *et al.*, 2005). O těchto dvou patologiích bude pojednávat samostatná kapitola. DNM2 je také spojován s pozdní formou Alzheimerovy choroby (Aidaralieva *et al.*, 2008), kde snížená exprese DNM2 zapříčiňuje hromadění prekursoru pro amyloidní protein (Kamagata *et al.*, 2009).

#### 4.3. DNM3

*DNM3* je uložen na chromozomu 1 (Nagase *et al.*, 1999) a exprimuje se především v mozku, plicích, srdci a ve varlatech (Cao *et al.*, 1998). U varlat se DNM3 vyskytuje ve dvou buněčných typech. Prvním typem jsou spermatogenní buňky, kde se DNM3 koncentruje v oblasti spojení hlavičky s bičíkem. Druhým typem jsou podpůrné Sertoliho buňky, kde se DNM3 exprimuje podél plazmatické membrány tubulárních invaginací, čímž nejspíše ovlivňuje morfogenezi a tvorbu váčků (Vaid *et al.*, 2007).

Společně s DNM1 má DNM3 vliv na přenos signálu v neuronových synapsích a ovlivňuje správný a efektivní průběh synaptické vezikulární endocytózy. Oproti DNM1, který se nachází zejména v presynaptické oblasti a podílí se na recyklaci synaptických váčků, se DNM3 vyskytuje především v postsynaptických oblastech. Zde se DNM3 podílí na vytvoření endocytické zóny, která vychytává a recykluje AMPA receptory v dendritických trnech (Lu *et al.*, 2007). Dále reguluje vývoj dendritických struktur, jako jsou právě trny nebo výběžky, a tím udržuje jejich morfologii (Gray *et al.*, 2003).

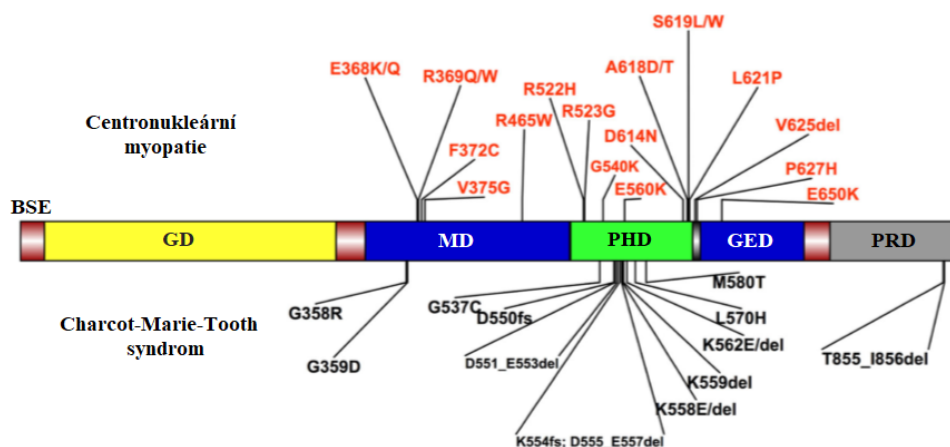
Dynaminy, jak již bylo zmíněno, mají jedinečné mechanicko-chemické vlastnosti, které se dobře uplatňují v přeskupení membrány a cytoskeletu. DNM3 není výjimkou, podílí se na vývoji megakaryocytů, čemuž napovídá různá exprese DNM3 během jejich vývoje (Reems *et al.*, 2008). Tuto teorii potvrzuje i další studie, která navíc dodává, že DNM3 může mít vliv na biogenezi trombocytů (Wang *et al.*, 2011). Jiná studie poukazuje na to, že při narušení

aktivity DNM3 a DNM2 může docházet k ovlivnění migrace megakaryocytů v lidském těle, protože inhibicí dynaminů dojde k narušení aktinových filament (Suraneni *et al.*, 2018).

DNM1 a DNM3 prokázaly nejvyšší expresi v lidské CNS, proto vyvstávají spekulace ohledně propojení poškození dynaminů s neurodegenerativními onemocněními (Romeu & Arola, 2014). Endocytóza zprostředkovaná DNM1 a DNM3 je samozřejmě důležitá pro rozvoj synapsí v CNS, respektive v mozku (Fan *et al.*, 2016), avšak při poškození aktivity DNM3 nebyla zjištěna žádná onemocnění. Nicméně se DNM3 exprimuje v malé míře i v játrech a nově se zkoumá jeho využití pro léčbu hepatocelulárního karcinomu. Ve tkáni tohoto karcinomu byla zjištěna snížená exprese DNM3, což mělo za následek metastázi nádoru. Zároveň nadměrná metylace promotoru *DNM3* pravděpodobně vede ke snížení proliferace nádorových buněk a podporuje jejich apoptózu (Zhang *et al.*, 2016).

## 5. Lidské patologie spojené s DNM2

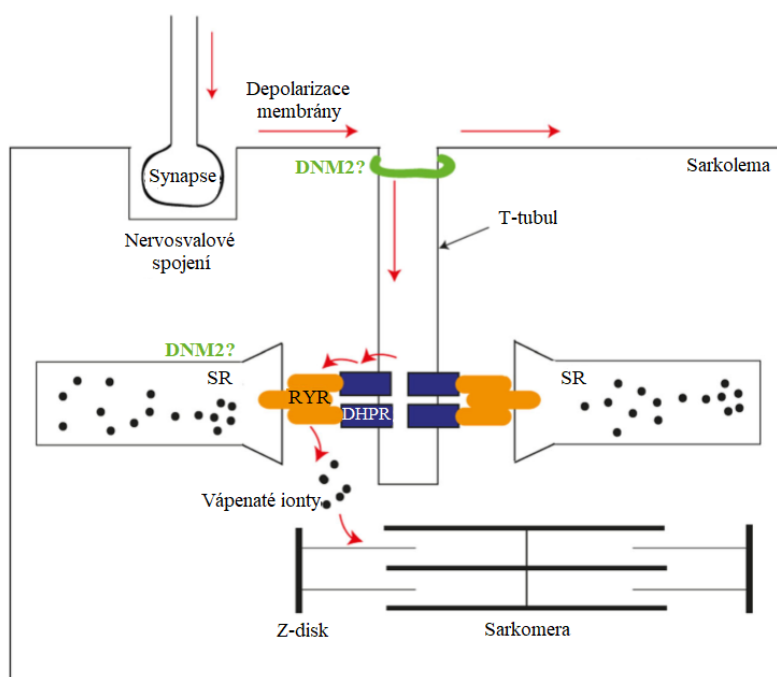
Mutace v *DNM* vedou u *DNM1* a *DNM2* ke vzniku zdravotního postižení. Příkladem patologie spojené s mutací v *DNM1* je epileptická encefalopatie (Allen *et al.*, 2016; Brereton *et al.*, 2018). Nicméně porucha jeho funkce je pouze jedním z mnoha faktorů doprovázejících toto postižení, zatímco mutace v *DNM2* jsou přímo zodpovědné za lidské patologie. Mutace v *DNM2* způsobují vrozená nervosvalová onemocnění, konkrétně CNM (Bitoun *et al.*, 2005) a CMT (Züchner *et al.*, 2005). Přestože se mutace nalezené v uvedených patologiích nacházejí ve stejné oblasti DNM2 (**Obr. 5**), nebylo zatím prokázáno, že by jedna mutace vyvolávala obě onemocnění.



**Obr. 5:** Schéma uspořádání domén v DNM2 a v nich vyznačené mutace způsobující CNM (červeně) a CMT (černě). Upraveno dle (Zhao *et al.*, 2018).

## 5.1. Centronukleární myopatie

CNM je vrozené svalové onemocnění, které je způsobeno heterozygotní mutací, která narušuje aktivitu kosterního svalu. Mezi hlavní regulující podjednotky kosterního svalu patří nervosvalové spojení, sarkomera a triáda. Sarkomera je složena z myofibril (svalových vláken) a jedná se o pravidelný, opakující se úsek svalu ohraničený Z-diskem. Plazmatická membrána se označuje jako sarkolema a utváří invaginace – T-tubuly (Dowling *et al.*, 2014), ve kterých je přítomen DNM2 (Cowling *et al.*, 2011). Triáda je složena z T-tubulu a dvou sarkoplazmatických retikul (SR) a je významná pro spřažení excitace a kontrakce svalu (**Obr. 6**). Právě poškození v aktivitě triády nebo možná už v její biogenezi, způsobuje velké množství lidských svalových poruch, včetně CNM (Dowling *et al.*, 2014).



**Obr. 6:** Schéma hlavních regulujících jednotek během spřažení excitace a kontrakce kosterního svalu a vyznačení pravděpodobného výskytu DNM2 (zeleně). Přes nervosvalové spojení přejde vzruch na membránu, kde vyvolá depolarizaci. V T-tubulech se vyskytují dihydropyridinové receptory, DHPR (modře), u kterých depolarizace způsobí navázání se na sousedící SR přes RYR1 (oranžově). Tato interakce uvolní vápenaté ionty (černé tečky) ze SR, které se naváží na tenká aktinová vlákna sarkomery, což vyvolá stah svalu. Upraveno dle (Zhao *et al.*, 2018).

### 5.1.1. Typy CNM

CNM se rozděluje do tří forem podle způsobu dědičnosti a podle mutovaného genu. Nejčastější formou je XLCNM způsobená X-vázanou recesivní mutací v *MTM1* (gen kódující

myotubularin) (Buj-Bello *et al.*, 1999). Další častou formou je ADCNM, která je způsobena autosomálně dominantní mutací v *DNM2* (Bitoun *et al.*, 2005). Vzácnější forma, ARCNM se dědí autosomálně recesivním způsobem a je zapříčiněna mutacemi v některém z těchto tří genů - *BIN1* kódující amphiphysin-2 (Nicot *et al.*, 2007), *RYR1* kódující kosterní svalový receptor ryanodin 1 (Wilmschurst *et al.*, 2010) a nebo *TTN* kódující titin (Ceyhan-Birsoy *et al.*, 2013), což je protein nacházející se v sarkomeře.

### 5.1.2. Histologie a klinické příznaky CNM

Všechny formy mají některé společné histologické znaky, jako je zvýšený poměr centralizovaných jader ve svalové biopsii, odchylky ve struktuře triády nebo propojení mezi excitací a kontrakcí svalu. Mezi klinické příznaky patří hypotonie a svalová slabost, která se často projevuje v obličejí a při pohybu očí (Fischer, 2006). Může být postižena i CNS, kdy dojde ke snížení inteligenčního kvocientu (Böhm *et al.*, 2012). Příznaky se často vyskytují v těžkých formách hned po narození.

### 5.1.3. DNM2 v CNM

Velká část mutací je lokalizována na C-konci  $\alpha$ -helixu PHD (Bitoun *et al.*, 2007; Böhm *et al.*, 2012), která zodpovídá za vazbu lipidů (Zheng *et al.*, 1996; Lemmon & Ferguson, 2000). Mutace ovšem neovlivňují tuto schopnost, ale zvyšují schopnost uspořádání DNM a aktivitu GTPázy, což je pravděpodobně způsobeno interakcí mezi doménami dynaminů (Kenniston & Lemmon, 2010). Nejvíce mutací je ale lokalizováno v MD (Bitoun *et al.*, 2005; Böhm *et al.*, 2012). U pacientů s mutacemi v těchto doménách byla rovněž pozorována tvorba stabilních oligomerů a navýšení GTPázové aktivity (Wang *et al.*, 2010). Naopak nejméně mutací je v GED (Bitoun *et al.*, 2009; Böhm *et al.*, 2012) a na rozhraní GED a PHD (Böhm *et al.*, 2012). Mechanismus, kterým mutace v *DNM2* způsobují CNM, je stále nejasný, existují však různé teorie.

DNM2 hraje důležitou roli během CME (Hinshaw, 2000), proto vyvstává otázka poškození průběhu tohoto buněčného děje. Nicméně není prokázáno, že by mutace v *DNM2* u tohoto onemocnění vedly k narušení CME. Výsledky studie zabývající se touto teorií nevykazovaly žádné změny v průběhu CME u myších buněk s *DNM2* KO (Liu *et al.*, 2011a). Nízkou pravděpodobnost této teorie potvrzuje i další studie, při které bylo prokázáno, že mutantní forma DNM2 je schopna normálního průběhu CME (Srinivasan *et al.*, 2016).

U všech forem CNM bylo zjištěno narušení autofágie (Durieux *et al.*, 2010, 2012; Böhm *et al.*, 2013; Fetalvero *et al.*, 2013). Při tvorbě membrány autofagozomu je zapotřebí váčků, které přináší potřebné složky pro její sestavení. Tyto váčky obsahují protein Atg9, který je

regulován DNM2 (Takahashi *et al.*, 2016). Nicméně teorie navrhuující, že narušení autofágie způsobuje CNM nebyla dostatečně prozkoumána.

Dalším možným mechanismem může být poškození T-tubulů, které jsou součástí triády. Pomocí imunofluorescenčního barvení myšního kosterního svalu bylo zjištěno, že DNM2 se vyskytuje společně s  $\alpha$ -aktinem na Z-disku sarkomery (Cowling *et al.*, 2011). Nepřítomnost DNM2 přímo v T-tubulech naznačuje, že by DNM2 mohl regulovat jejich biogenezi. Na což poukazuje studie, kde nadměrná exprese mutovaného DNM2 narušuje tvorbu T-tubulů (Gibbs *et al.*, 2014). Nicméně není zřejmé, zda ovlivnění tvorby T-tubulů vede k narušení regulace triády.

Velkou roli ve svalech zastává i aktin. Pro vývoj kosterního svalu je důležitý děj, při kterém splývají myoblasty (kmenové buňky kosterní svaloviny), čímž vznikne svalové vlákno. Aktinový cytoskelet je důležitý pro toto splnutí buněčných membrán. DNM2 dokáže sestavit polymer okolo aktinových filament, čímž utvoří pevný svazek a dopomůže k organizaci aktinového cytoskeletu (Chuang *et al.*, 2019). Také byla objevena místa v „oblasti stalk“ DNM2, která jsou schopna vázat aktin (Gu *et al.*, 2010), a byla prokázána spojitost DNM2 s aktin vázajícími proteiny (Mooren *et al.*, 2009). Zároveň bylo zjištěno, že nedostatek izoformy aktinu –  $\gamma$ -aktinu specifického pro kosterní sval - vede u myší k podobnému fenotypu, jako je pozorován u CNM, a to včetně odchylky triády a centralizovaného jádra ve svalu (Sonnemann *et al.*, 2006). Dále na myších modelech svalových buněk nesoucích mutace v MD došlo k přestavbě aktinu a ke snížení tvorby aktinových filament (González-Jamett *et al.*, 2017). Další teorie tedy pracuje s vlivem polymerace aktinu ve svalových buňkách na CNM. Avšak i tato teorie je málo prozkoumaná a je třeba dalšího výzkumu.

Zajímavým objevem je, že v myších modelech, které měly X-vázanou formu, byly zjištěny zvýšené hodnoty DNM2 (Cowling *et al.*, 2014). U těchto myší se podařilo odvrátit fenotyp CNM snížením hladiny DNM2 (Cowling *et al.*, 2014; Tasfaout *et al.*, 2017, 2018). To se podařilo i u autosomálně recesivní formy způsobené mutací v *BINI* (Cowling *et al.*, 2017). Tyto výsledky naznačují důležitost DNM2 ve všech formách CNM a jeho možného využití při budoucí léčbě CNM způsobené mutací v *DNM2*, ale pravděpodobně i pro terapii ostatních typů CNM. Dokonce jsou již testovány strategie pro odvrácení myopatie spojené s DNM2 (Buono *et al.*, 2018).

## 5.2. Syndrom Charcot-Marie-Tooth

CMT je vrozená neuropatie, která postihuje motorické a senzorycké periferní nervy. Ty jsou tvořeny nervovými vlákny, neboli axony, které přenáší informace ve formě AP. Axony jsou obaleny myelinovou pochvou, která slouží jako izolant a napomáhá k rychlejšímu vedení nervového signálu. U CNS se tento obal skládá z oligodendrocytů a u periferní nervové soustavy (PNS) ze Schwannových buněk. CMT zahrnuje skupinu onemocnění se stejnými klinickými příznaky, ale rozlišným genetickým původem (Liu & Zhang, 2014).

### 5.2.1. Typy CMT

Na základě elektrofyziologického kritéria jsou rozlišovány dvě hlavní formy. První je označována jako demyelinizační CMT (CMT1). U tohoto typu jsou poškozeny myelinové pochvy, což způsobuje zpomalení nervového přenosu. Druhý typ je nazýván jako axonální (CMT2) a, jak název naznačuje, dochází u něj k narušení axonů. To ovlivňuje intenzitu nervového přenosu, nikoliv však jeho rychlost. S přibývajícimi objevy a poznatky byla stanovena další forma vykazující vlastnosti obou hlavních typů, která je označována jako intermediární podtyp CMT (Liu & Zhang, 2014).

Mutace v *DNM2* způsobují axonální typ CMT2M (Fabrizi *et al.*, 2007) a jeden z intermediárních podtypů, konkrétně DI-CMTB (Züchner *et al.*, 2005). CMT způsobené mutacemi v *DNM2* jsou vzácné a dědí se autosomálně dominantním způsobem.

### 5.2.2. Histologie a klinické příznaky CMT

Mezi obecné klinické příznaky CMT patří ztráta hmatové citlivosti, neuropatická bolest, deformace chodidel a svalová slabost až atrofie. Pacienti s tímto syndromem způsobeným mutací v *DNM2* vykazují klasické klinické příznaky CMT a zároveň katarakty, které jsou pro tuto formu specifické (Bitoun *et al.*, 2008; Claeys *et al.*, 2009). Elektrofyziologicky se měří hodnota CNV, která udává rychlost nervového přenosu. Normální rychlost je nad 45 m/s. U CMT vyvolané mutacemi v *DNM2* byla zjištěna hodnota v rozmezí od 26 m/s až k normálním hodnotám (Claeys *et al.*, 2009).

### 5.2.3. DNM2 v CMT

Většina mutací je lokalizováno v PHD, převážně v N-koncové oblasti (Züchner *et al.*, 2005; Böhm *et al.*, 2012). Další se nacházejí v MD a PRD (Claeys *et al.*, 2009). U zdravého jedince se nejdříve tvoří dimery DNM, které se naváží přes fosfolipidy na membránu a následně se sestaví do vyšších struktur. PHD inhibuje „stalk oblast“, aby došlo nejdříve k navázání na membránu a posléze až k oligomerizaci. Následná hydrolýza GTP zprostředkuje štěpení membrány a disociaci DNM. U pacientů s CMT dochází ke snížení



GTPázové aktivity a k neschopnosti vázat fosfolipidy (Kenniston & Lemmon, 2010), což vede k menšímu množství navázaných oligomerů a to má za následek sníženou aktivitu štěpení. Naopak u CNM dochází ke zvýšení aktivity GTPázy a ke tvorbě stabilnějších oligomerů (Kenniston & Lemmon, 2010), pravděpodobně následkem narušení aktivity DNM při uspořádávání a disociaci.

Mechanismus způsobující CMT je nejasný, avšak existují různé teorie. První je inhibice CME, která byla pozorována u některých mutací v buňkách odvozených od PNS (Sidiropoulos *et al.*, 2012), ale i v dalších buněčných kulturách (COS-7 a COS-1) (Tanabe & Takei, 2009; Koutsopoulos *et al.*, 2011). Nicméně u jiných mutantů probíhala CME normálně (Koutsopoulos *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2011a), což vyvrací tuto teorii coby hlavní příčinu CMT spojenou s DNM2 a spíše poukazuje na schopnost zpomalení průběhu CME u některých mutantů. Navíc bylo zjištěno, že některé mutace způsobily poruchy v endocytóze nezávislé na klatrinu a transportu z Golgiho aparátu k membráně. Zajímavé je, že tyto stejné účinky se pozorovaly i u některých CNM mutací, což by mohlo propojovat tato dvě onemocnění (Liu *et al.*, 2011a).

Nová studie poukazuje na důležitost DNM2 v PNS, kde ovlivňuje vývoj Schwannových buněk a myelinizaci (Gerber *et al.*, 2019). Snížení myelinizace u CMT-DNM2 mutantů bylo prokázáno již dříve, a to v gangliu dorzálních kořenů (Sidiropoulos *et al.*, 2012). Odstranění DNM2 ze Schwannových buněk způsobilo jejich demyelinizaci a následnou hromadnou apoptózu. Tento experiment vedl nicméně i k jinému zajímavému zjištění. Úmrtí velkého množství Schwannových buněk vyvolalo jejich schopnost sebeobnovení, což by se v budoucnu dalo využít k léčbě CMT a dalších onemocnění spojených s buňkami PNS (Gerber *et al.*, 2019).

## 6. Závěr

Struktura DNM je dobře popsána, díky čemuž lze lépe pochopit vlastnosti a schopnosti tohoto proteinu. DNM je důležitým účastníkem mnoha buněčných dějů. Zprostředkovává finální fázi odštěpování váčku během CME, zastává významnou roli v synaptické recyklaci a ovlivňuje některé děje spojené s cytoskeletem buňky. DNM se u savců exprimuje ve všech tkáních těla a je kódován třemi geny. Původně se předpokládalo, že jednotlivé izoformy zastávají různé specifické funkce v buněčných dějích. Nicméně tato navržená teorie není v současné době podporována, jelikož bylo zjištěno, že jednotlivé izoformy jsou schopny se do určité míry zastupovat, přestože každá izoforma má převahu v dané tkáni. DNM1 a DNM3 se vyskytují zejména v buňkách nervového systému, zatímco DNM2 zastává funkce mimo něj.

Mutace v *DNM2* způsobují dvě nervosvalové patologie u lidí – CNM a CMT. Přestože přesná funkce DNM2 je ve svalech a periferních nervech neznámá, podílí se tento protein na několika úzce souvisejících dějích, které mohou být samostatně nebo v různé kombinaci příčinou zmíněných patologií. Zásadní otázkou ve výzkumu patologie CNM a CMT zůstává, proč mutace v různých oblastech DNM2 ovlivňují u těchto onemocnění jen jednu tkáň. S tím souvisí otázka, jak je možné, že mutace ve stejných oblastech vedou k odlišným projevům aktivity DNM2 a rozdílným patologiím. Jednou z možných odpovědí by mohla být neschopnost kompenzace narušené aktivity DNM2, kvůli samostatnému výskytu této izoformy v některých tkáních. Další možností by mohla být porucha určité biochemické vlastnosti DNM2, jako je třeba interakce s určitým proteinem (například aktinem), vedoucí k ovlivnění specifického děje závislého na DNM2.

Cílem této bakalářské práce bylo shrnout dosavadní poznatky o roli DNM v rámci buňky. Některé funkce tohoto proteinu jsou stále nejasné nebo málo probádané a prozkoumání těchto funkcí by mohlo vést k zajímavým výsledkům a ke komplexnější představě o buněčných dějích. Jednou z takových funkcí je například interakce DNM s aktinem. Součástí této práce bylo i pojednání o onemocněních souvisejících s mutacemi v *DNM2*. I přes dosavadní výzkumy jsou mechanismy způsobující CNM a CMT dosud neznámé, a je tudíž zapotřebí dalšího studia, jak mutace v *DNM2* ovlivňují aktivitu tohoto proteinu. Výsledky by mohly napomoci k budoucí léčbě zmíněných patologií.

## 7. Použitá literatura

- Aidaralievá NJ, Kamino K, Kimura R, Yamamoto M, Morihara T, Kazui H, Hashimoto R, Tanaka T, Kudo T, Kida T, Okuda J-I, Uema T, Yamagata H, Miki T, Akatsu H, Kosaka K & Takeda M (2008) Dynamin 2 gene is a novel susceptibility gene for late-onset Alzheimer disease in non-*APOE*- $\epsilon$ 4 carriers. *Journal of Human Genetics* **53**: 296–302
- Allen NM, Conroy J, Shahwan A, Lynch B, Correa RG, Pena SDJ, McCreary D, Magalhães TR, Ennis S, Lynch SA & King MD (2016) Unexplained early onset epileptic encephalopathy: Exome screening and phenotype expansion. *Epilepsia* **57**: e12–e17
- Anand R, Eschenburg S & Reubold TF (2016) Crystal structure of the GTPase domain and the bundle signalling element of dynamin in the GDP state. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **469**: 76–80
- Antonny B, Burd C, De Camilli P, Chen E, Daumke O, Faelber K, Ford M, Frolov VA, Frost A, Hinshaw JE, Kirchhausen T, Kozlov MM, Lenz M, Low HH, McMahon H, Merrifield C, Pollard TD, Robinson PJ, Roux A & Schmid S (2016) Membrane fission by dynamin: what we know and what we need to know. *The EMBO Journal* **35**: 2270–2284 **Review**
- Baldassarre M, Pompeo A, Beznoussenko G, Castaldi C, Cortellino S, McNiven MA, Luini A & Buccione R (2003) Dynamin Participates in Focal Extracellular Matrix Degradation by Invasive Cells. *Molecular Biology of the Cell* **14**: 1074–1084
- Bethoney KA, King MC, Hinshaw JE, Ostap EM & Lemmon MA (2009) A possible effector role for the pleckstrin homology (PH) domain of dynamin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **106**: 13359–13364
- Bitoun M, Bevilacqua JA, Prudhon B, Maugenre S, Taratuto AL, Monges S, Lubieniecki F, Cances C, Uro-Coste E, Mayer M, Fardeau M, Romero NB & Guicheney P (2007) Dynamin 2 mutations cause sporadic centronuclear myopathy with neonatal onset. *Annals of Neurology* **62**: 666–670
- Bitoun M, Durieux A-C, Prudhon B, Bevilacqua JA, Herledan A, Sakanyan V, Urtizberea A, Cartier L, Romero NB & Guicheney P (2009) Dynamin 2 mutations associated with human diseases impair clathrin-mediated receptor endocytosis. *Human Mutation* **30**: 1419–1427
- Bitoun M, Maugenre S, Jeannet P-Y, Lacène E, Ferrer X, Laforêt P, Martin J-J, Laporte J, Lochmüller H, Beggs AH, Fardeau M, Eymard B, Romero NB & Guicheney P (2005) Mutations in dynamin 2 cause dominant centronuclear myopathy. *Nature Genetics* **37**: 1207–1209
- Bitoun M, Stojkovic T, Prudhon B, Maurage C-A, Latour P, Vermersch P & Guicheney P (2008) A novel mutation in the dynamin 2 gene in a Charcot-Marie-Tooth type 2 patient: Clinical and pathological findings. *Neuromuscular Disorders* **18**: 334–338
- Bleazard W, McCaffery JM, King EJ, Bale S, Mozdy A, Tieu Q, Nunnari J & Shaw JM (1999) The dynamin-related GTPase Dnm1 regulates mitochondrial fission in yeast. *Nature Cell Biology* **1**: 298–304

- van der Blik AM & Meyerowitz EM (1991) Dynamin-like protein encoded by the *Drosophila shibire* gene associated with vesicular traffic. *Nature* **351**: 411–414
- Böhm J, Biancalana V, DeChene ET, Bitoun M, Pierson CR, Schaefer E, Karasoy H, Dempsey MA, Klein F, Dondaine N, Kretz C, Haumesser N, Poirson C, Toussaint A, Greenleaf RS, Barger MA, Mahoney LJ, Kang PB, Zanoteli E, Vissing J, *et al.* (2012) Mutation Spectrum in the Large GTPase Dynamin 2, and Genotype–Phenotype Correlation in Autosomal Dominant Centronuclear Myopathy. *Human mutation* **33**: 949–959 **Review**
- Böhm J, Vasli N, Maurer M, Cowling B, Shelton GD, Kress W, Toussaint A, Prokic I, Schara U, Anderson TJ, Weis J, Tired L & Laporte J (2013) Altered Splicing of the BIN1 Muscle-Specific Exon in Humans and Dogs with Highly Progressive Centronuclear Myopathy. *PLoS Genetics* **9**: e1003430
- Boulant S, Kural C, Zeeh J-C, Ubelmann F & Kirchhausen T (2011) Actin dynamics counteract membrane tension during clathrin-mediated endocytosis. *Nature Cell Biology* **13**: 1124–1131
- Brereton E, Fassi E, Araujo GC, Dodd J, Telegrafi A, Pathak SJ & Shinawi M (2018) Mutations in the PH Domain of DNMI1 are associated with a nonepileptic phenotype characterized by developmental delay and neurobehavioral abnormalities. *Molecular Genetics & Genomic Medicine* **6**: 294–300
- Buj-Bello A, Biancalana V, Moutou C, Laporte J & Mandel J-L (1999) Identification of novel mutations in the MTM1 gene causing severe and mild forms of X-linked myotubular myopathy. *Human Mutation* **14**: 320–325
- Buono S, Ross JA, Tasfaout H, Levy Y, Kretz C, Tayefeh L, Matson J, Guo S, Kessler P, Monia BP, Bitoun M, Ochala J, Laporte J & Cowling BS (2018) Reducing dynamin 2 (DNM2) rescues DNM2-related dominant centronuclear myopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **115**: 11066–11071
- Cao H, Garcia F & McNiven MA (1998) Differential Distribution of Dynamin Isoforms in Mammalian Cells. *Molecular Biology of the Cell* **9**: 2595–2609
- Cárdenas AM & Marengo FD (2010) Rapid Endocytosis and Vesicle Recycling in Neuroendocrine Cells. *Cellular and Molecular Neurobiology* **30**: 1365–1370 **Review**
- Ceyhan-Birsoy O, Agrawal PB, Hidalgo C, Schmitz-Abe K, DeChene ET, Swanson LC, Soemedi R, Vasli N, Iannaccone ST, Shieh PB, Shur N, Dennison JM, Lawlor MW, Laporte J, Markianos K, Fairbrother WG, Granzier H & Beggs AH (2013) Recessive truncating titin gene, TTN, mutations presenting as centronuclear myopathy. *Neurology* **81**: 1205–1214
- Chappie JS, Acharya S, Leonard M, Schmid SL & Dyda F (2010) G domain dimerization controls dynamin’s assembly-stimulated GTPase activity. *Nature* **465**: 435–440
- Chappie JS, Acharya S, Liu Y-W, Leonard M, Pucadyil TJ & Schmid SL (2009) An Intramolecular Signaling Element that Modulates Dynamin Function In Vitro and In Vivo. *Molecular Biology of the Cell* **20**: 3561–3571

- Chappie JS, Mears JA, Fang S, Leonard M, Schmid SL, Milligan RA, Hinshaw JE & Dyda F (2011) A pseudo-atomic model of the dynamin polymer identifies a hydrolysis-dependent powerstroke. *Cell* **147**: 209–222
- Chircop M, Sarcevic B, Larsen MR, Malladi CS, Chau N, Zavortink M, Smith CM, Quan A, Anggono V, Hains PG, Graham ME & Robinson PJ (2011) Phosphorylation of dynamin II at serine-764 is associated with cytokinesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* **1813**: 1689–1699
- Chuang M-C, Lin S-S, Ohniwa RL, Lee G-H, Su Y-A, Chang Y-C, Tang M-J & Liu Y-W (2019) Tks5 and Dynamin-2 enhance actin bundle rigidity in invadosomes to promote myoblast fusion. *Journal of Cell Biology*: jcb.201809161
- Claeys KG, Züchner S, Kennerson M, Berciano J, Garcia A, Verhoeven K, Storey E, Merory JR, Bienfait HME, Lammens M, Nelis E, Baets J, De Vriendt E, Berneman ZN, De Veuster I, Vance JM, Nicholson G, Timmerman V & De Jonghe P (2009) Phenotypic spectrum of dynamin 2 mutations in Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Brain* **132**: 1741–1752
- Clark SG, Shurland D-L, Meyerowitz EM, Bargmann CI & van der Blik AM (1997) A dynamin GTPase mutation causes a rapid and reversible temperature-inducible locomotion defect in *C. elegans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**: 10438–10443
- Cowling BS, Chevremont T, Prokic I, Kretz C, Ferry A, Coirault C, Koutsopoulos O, Laugel V, Romero NB & Laporte J (2014) Reducing dynamin 2 expression rescues X-linked centronuclear myopathy. *The Journal of Clinical Investigation* **124**: 1350–1363
- Cowling BS, Prokic I, Tasfaout H, Rabai A, Humbert F, Rinaldi B, Nicot A-S, Kretz C, Friant S, Roux A & Laporte J (2017) Amphiphysin (BIN1) negatively regulates dynamin 2 for normal muscle maturation. *The Journal of Clinical Investigation* **127**: 4477–4487
- Cowling BS, Toussaint A, Amoasii L, Koebel P, Ferry A, Davignon L, Nishino I, Mandel J-L & Laporte J (2011) Increased Expression of Wild-Type or a Centronuclear Myopathy Mutant of Dynamin 2 in Skeletal Muscle of Adult Mice Leads to Structural Defects and Muscle Weakness. *The American Journal of Pathology* **178**: 2224–2235
- Dar S & Pucadyil TJ (2017) The pleckstrin-homology domain of dynamin is dispensable for membrane constriction and fission. *Molecular Biology of the Cell* **28**: 152–160
- Doherty GJ & McMahon HT (2009) Mechanisms of Endocytosis. *Annual Review of Biochemistry* **78**: 857–902 **Review**
- Dowling JJ, Lawlor MW & Dirksen RT (2014) Triadopathies: An Emerging Class of Skeletal Muscle Diseases. *Neurotherapeutics* **11**: 773–785 **Review**
- Durieux A-C, Vassilopoulos S, Lainé J, Frayssé B, Briñas L, Prudhon B, Castells J, Freysenet D, Bonne G, Guicheney P & Bitoun M (2012) A centronuclear myopathy--dynamin 2 mutation impairs autophagy in mice. *Traffic* **13**: 869–879
- Durieux A-C, Vignaud A, Prudhon B, Viou MT, Beuvin M, Vassilopoulos S, Frayssé B, Ferry A, Lainé J, Romero NB, Guicheney P & Bitoun M (2010) A centronuclear

- myopathy-dynamin 2 mutation impairs skeletal muscle structure and function in mice. *Human Molecular Genetics* **19**: 4820–4836
- Fabrizi GM, Ferrarini M, Cavallaro T, Cabrini I, Cerini R, Bertolasi L & Rizzuto N (2007) Two novel mutations in dynamin-2 cause axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* **69**: 291–295
- Faelber K, Posor Y, Gao S, Held M, Roske Y, Schulze D, Haucke V, Noé F & Daumke O (2011) Crystal structure of nucleotide-free dynamin. *Nature* **477**: 556–560
- Fan F, Funk L & Lou X (2016) Dynamin 1- and 3-Mediated Endocytosis Is Essential for the Development of a Large Central Synapse *In Vivo*. *The Journal of Neuroscience* **36**: 6097–6115
- Ferguson KM, Lemmon MA, Schlessinger J & Sigler PB (1994) Crystal structure at 2.2 Å resolution of the pleckstrin homology domain from human dynamin. *Cell* **79**: 199–209
- Ferguson SM, Brasnjo G, Hayashi M, Wolfel M, Collesi C, Giovedi S, Raimondi A, Gong L-W, Ariel P, Paradise S, O'Toole E, Flavell R, Cremona O, Miesenbock G, Ryan TA & De Camilli P (2007) A Selective Activity-Dependent Requirement for Dynamin 1 in Synaptic Vesicle Endocytosis. *Science* **316**: 570–574
- Ferguson SM & De Camilli P (2012) Dynamin, a membrane remodelling GTPase. *Nature reviews. Molecular Cell Biology* **13**: 75–88 **Review**
- Ferguson SM, Raimondi A, Paradise S, Shen H, Mesaki K, Ferguson A, Destaing O, Ko G, Takasaki J, Cremona O, O'Toole E & De Camilli P (2009) Coordinated actions of actin and BAR proteins upstream of dynamin at endocytic clathrin-coated pits. *Developmental Cell* **17**: 811–822
- Fetalvero KM, Yu Y, Goetschkes M, Liang G, Valdez RA, Gould T, Triantafellow E, Bergling S, Loureiro J, Eash J, Lin V, Porter JA, Finan PM, Walsh K, Yang Y, Mao X & Murphy LO (2013) Defective Autophagy and mTORC1 Signaling in Myotubularin Null Mice. *Molecular and Cellular Biology* **33**: 98–110
- Fischer D (2006) Characterization of the muscle involvement in dynamin 2-related centronuclear myopathy. *Brain* **129**: 1463–1469
- Ford MGJ, Jenni S & Nunnari J (2011) The crystal structure of dynamin. *Nature* **477**: 561–566
- Fujimoto M, Arimura S, Mano S, Kondo M, Saito C, Ueda T, Nakazono M, Nakano A, Nishimura M & Tsutsumi N (2009) Arabidopsis dynamin-related proteins DRP3A and DRP3B are functionally redundant in mitochondrial fission, but have distinct roles in peroxisomal fission. *The Plant Journal* **58**: 388–400
- Fujimoto M, Arimura S, Nakazono M & Tsutsumi N (2008) Arabidopsis dynamin-related protein DRP2B is co-localized with DRP1A on the leading edge of the forming cell plate. *Plant Cell Reports* **27**: 1581

- Gao H, Sage TL & Osteryoung KW (2006) FZL, an FZO-like protein in plants, is a determinant of thylakoid and chloroplast morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**: 6759–6764
- Gao S, von der Malsburg A, Paeschke S, Behlke J, Haller O, Kochs G & Daumke O (2010) Structural basis of oligomerization in the stalk region of dynamin-like MxA. *Nature* **465**: 502–506
- Gerber D, Ghidinelli M, Tinelli E, Somandin C, Gerber J, Pereira JA, Ommer A, Figlia G, Mieke M, Nägeli LG, Suter V, Tadini V, Sidiropoulos PN, Wessig C, Toyka KV & Suter U (2019) Schwann cells, but not Oligodendrocytes, Depend Strictly on Dynamin 2 Function. *eLife* **8**: e42404
- Gibbs EM, Davidson AE, Telfer WR, Feldman EL & Dowling JJ (2014) The myopathy-causing mutation DNM2-S619L leads to defective tubulation in vitro and in developing zebrafish. *Disease Models & Mechanisms* **7**: 157–161
- Gold ES, Underhill DM, Morrisette NS, Guo J, McNiven MA & Aderem A (1999) Dynamin 2 Is Required for Phagocytosis in Macrophages. *The Journal of Experimental Medicine* **190**: 1849–1856
- González-Jamett AM, Baez-Matus X, Olivares MJ, Hinostroza F, Guerra-Fernández MJ, Vasquez-Navarrete J, Bui MT, Guicheney P, Romero NB, Bevilacqua JA, Bitoun M, Caviedes P & Cárdenas AM (2017) Dynamin-2 mutations linked to Centronuclear Myopathy impair actin-dependent trafficking in muscle cells. *Scientific Reports* **7**: 4580
- Grassart A, Cheng AT, Hong SH, Zhang F, Zenzer N, Feng Y, Briner DM, Davis GD, Malkov D & Drubin DG (2014) Actin and dynamin2 dynamics and interplay during clathrin-mediated endocytosis. *The Journal of Cell Biology* **205**: 721–735
- Gray NW, Fourgeaud L, Huang B, Chen J, Cao H, Oswald BJ, Hémar A & McNiven MA (2003) Dynamin 3 Is a Component of the Postsynapse, Where it Interacts with mGluR5 and Homer. *Current Biology* **13**: 510–515
- Gu C, Yaddanapudi S, Weins A, Osborn T, Reiser J, Pollak M, Hartwig J & Sever S (2010) Direct dynamin–actin interactions regulate the actin cytoskeleton. *The EMBO Journal* **29**: 3593–3606
- Henley JR, Krueger EWA, Oswald BJ & McNiven MA (1998) Dynamin-mediated Internalization of Caveolae. *The Journal of Cell Biology* **141**: 85–99
- Herskovits JS, Shpetner HS, Burgess CC & Vallee RB (1993) Microtubules and Src homology 3 domains stimulate the dynamin GTPase via its C-terminal domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **90**: 11468–11472
- Heymann JAW & Hinshaw JE (2009) Dynamins at a glance. *Journal of Cell Science* **122**: 3427–3431 **Review**
- Hinshaw JE (2000) Dynamin and its Role in Membrane Fission. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **16**: 483–519 **Review**

- Hinshaw JE & Schmid SL (1995) Dynamin self-assembles into rings suggesting a mechanism for coated vesicle budding. *Nature* **374**: 190–192
- Hu J, Shibata Y, Zhu P-P, Voss C, Rismanchi N, Prinz WA, Rapoport TA & Blackstone C (2009) A class of dynamin-like GTPases involved in the generation of the tubular ER network. *Cell* **138**: 549–561
- Ishida N, Nakamura Y, Tanabe K, Li S-A & Takei K (2011) Dynamin 2 Associates with Microtubules at Mitosis and Regulates Cell Cycle Progression. *Cell Structure and Function* **36**: 145–154
- Itoh T, Erdmann KS, Roux A, Habermann B, Werner H & De Camilli P (2005) Dynamin and the Actin Cytoskeleton Cooperatively Regulate Plasma Membrane Invagination by BAR and F-BAR Proteins. *Developmental Cell* **9**: 791–804
- Jones SM (1998) Role of Dynamin in the Formation of Transport Vesicles from the Trans-Golgi Network. *Science* **279**: 573–577
- Kamagata E, Kudo T, Kimura R, Tanimukai H, Morihara T, Sadik MdG, Kamino K & Takeda M (2009) Decrease of dynamin 2 levels in late-onset Alzheimer's disease alters A $\beta$  metabolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **379**: 691–695
- Kenniston JA & Lemmon MA (2010) Dynamin GTPase regulation is altered by PH domain mutations found in centronuclear myopathy patients. *The EMBO Journal* **29**: 3054–3067
- Koch A, Thiemann M, Grabenbauer M, Yoon Y, McNiven MA & Schrader M (2003) Dynamin-like Protein 1 Is Involved in Peroxisomal Fission. *Journal of Biological Chemistry* **278**: 8597–8605
- Konopka CA, Backues SK & Bednarek SY (2008) Dynamics of Arabidopsis Dynamin-Related Protein 1C and a Clathrin Light Chain at the Plasma Membrane. *The Plant Cell* **20**: 1363–1380
- Koutsopoulos OS, Koch C, Tosch V, Böhm J, North KN & Laporte J (2011) Mild Functional Differences of Dynamin 2 Mutations Associated to Centronuclear Myopathy and Charcot-Marie-Tooth Peripheral Neuropathy. *PLoS ONE* **6**: e27498
- Krueger EW, Orth JD, Cao H & McNiven MA (2003) A Dynamin–Cortactin–Arp2/3 Complex Mediates Actin Reorganization in Growth Factor-stimulated Cells. *Molecular Biology of the Cell* **14**: 1085–1096
- Lee E & De Camilli P (2002) Dynamin at actin tails. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**: 161–166
- Lemmon MA & Ferguson KM (2000) Signal-dependent membrane targeting by pleckstrin homology (PH) domains. *Biochemical Journal* **350**: 1–18 **Review**
- Li X & Gould SJ (2003) The Dynamin-like GTPase DLP1 Is Essential for Peroxisome Division and Is Recruited to Peroxisomes in Part by PEX11. *Journal of Biological Chemistry* **278**: 17012–17020



- Liu L & Zhang R (2014) Intermediate Charcot-Marie-Tooth disease. *Neuroscience Bulletin* **30**: 999–1009 **Review**
- Liu Y-W, Lukiyanuk V & Schmid SL (2011a) Common Membrane Trafficking Defects of Disease Associated Dynamin 2 Mutations. *Traffic* **12**: 1620–1633
- Liu Y-W, Neumann S, Ramachandran R, Ferguson SM, Pucadyil TJ & Schmid SL (2011b) Differential curvature sensing and generating activities of dynamin isoforms provide opportunities for tissue-specific regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**: E234–E242
- Liu Y-W, Surka MC, Schroeter T, Lukiyanuk V & Schmid SL (2008) Isoform and Splice-Variant Specific Functions of Dynamin-2 Revealed by Analysis of Conditional Knock-Out Cells. *Molecular Biology of the Cell* **19**: 5347–5359
- Lomash RM, Gu X, Youle RJ, Lu W & Roche KW (2015) Neurolastin, a Dynamin Family GTPase, Regulates Excitatory Synapses and Spine Density. *Cell Reports* **12**: 743–751
- Lu J, Helton TD, Blanpied TA, Rácz B, Newpher TM, Weinberg RJ & Ehlers MD (2007) Postsynaptic Positioning of Endocytic Zones and AMPA Receptor Cycling by Physical Coupling of Dynamin-3 to Homer. *Neuron* **55**: 874–889
- Mattila J-P, Shnyrova AV, Sundborger AC, Hortelano ER, Fuhrmans M, Neumann S, Müller M, Hinshaw JE, Schmid SL & Frolov VA (2015) A hemi-fission intermediate links two mechanistically distinct stages of membrane fission. *Nature* **524**: 109–113
- Merrifield CJ, Feldman ME, Wan L & Almers W (2002) Imaging actin and dynamin recruitment during invagination of single clathrin-coated pits. *Nature Cell Biology* **4**: 691–698
- Merrifield CJ, Perrais D & Zenisek D (2005) Coupling between clathrin-coated-pit invagination, cortactin recruitment, and membrane scission observed in live cells. *Cell* **121**: 593–606
- Merrifield CJ, Qualmann B, Kessels MM & Almers W (2004) Neural Wiskott Aldrich Syndrome Protein (N-WASP) and the Arp2/3 complex are recruited to sites of clathrin-mediated endocytosis in cultured fibroblasts. *European Journal of Cell Biology* **83**: 13–18
- Mooren OL, Kotova TI, Moore AJ & Schafer DA (2009) Dynamin2 GTPase and Cortactin Remodel Actin Filaments. *The Journal of Biological Chemistry* **284**: 23995–24005
- Morlot S, Galli V, Klein M, Chiaruttini N, Manzi J, Humbert F, Dinis L, Lenz M, Cappello G & Roux A (2012) Membrane Shape at the Edge of the Dynamin Helix Sets Location and Duration of the Fission Reaction. *Cell* **151**: 619–629
- Muhlberg AB, Warnock DE & Schmid SL (1997) Domain structure and intramolecular regulation of dynamin GTPase. *The EMBO Journal* **16**: 6676–6683
- Nagase T, Ishikawa K, Suyama M, Kikuno R, Hirose M, Miyajima N, Tanaka A, Kotani H, Nomura N & Ohara O (1999) Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XIII. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain

- which code for large proteins in vitro. *DNA research: an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes* **6**: 63–70
- Nakashima M, Kouga T, Lourenço CM, Shiina M, Goto T, Tsurusaki Y, Miyatake S, Miyake N, Saitsu H, Ogata K, Osaka H & Matsumoto N (2016) De novo DNM1 mutations in two cases of epileptic encephalopathy. *Epilepsia* **57**: e18–e23
- Neumann S & Schmid SL (2013) Dual Role of BAR Domain-containing Proteins in Regulating Vesicle Release Catalyzed by the GTPase, Dynamin-2. *The Journal of Biological Chemistry* **288**: 25119–25128
- Newman-Smith ED, Shurland DL & van der Blik AM (1997) Assignment of the dynamin-1 gene (DNM1) to human chromosome 9q34 by fluorescence in situ hybridization and somatic cell hybrid analysis. *Genomics* **41**: 286–289
- Nicot A-S, Toussaint A, Tosch V, Kretz C, Wallgren-Pettersson C, Iwarsson E, Kingston H, Garnier J-M, Biancalana V, Oldfors A, Mandel J-L & Laporte J (2007) Mutations in amphiphysin 2 (*BIN1*) disrupt interaction with dynamin 2 and cause autosomal recessive centronuclear myopathy. *Nature Genetics* **39**: 1134–1139
- Ochoa G-C, Slepnev VI, Neff L, Ringstad N, Takei K, Daniell L, Kim W, Cao H, McNiven M, Baron R & De Camilli P (2000) A Functional Link between Dynamin and the Actin Cytoskeleton at Podosomes. *The Journal of Cell Biology* **150**: 377–390
- Okamoto PM, Tripet B, Litowski J, Hodges RS & Vallee RB (1999) Multiple distinct coiled-coils are involved in dynamin self-assembly. *The Journal of Biological Chemistry* **274**: 10277–10286
- Orth JD, Krueger EW, Cao H & McNiven MA (2002) The large GTPase dynamin regulates actin comet formation and movement in living cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**: 167–172
- Peters C, Baars TL, Bühler S & Mayer A (2004) Mutual control of membrane fission and fusion proteins. *Cell* **119**: 667–678
- Raimondi A, Ferguson SM, Lou X, Armbruster M, Paradise S, Giovedi S, Messa M, Kono N, Takasaki J, Cappello V, O'Toole E, Ryan TA & De Camilli P (2011) Overlapping Role of Dynamin Isoforms in Synaptic Vesicle Endocytosis. *Neuron* **70**: 1100–1114
- Ramachandran R, Pucadyil TJ, Liu Y-W, Acharya S, Leonard M, Lukiyanchuk V & Schmid SL (2009) Membrane Insertion of the Pleckstrin Homology Domain Variable Loop 1 Is Critical for Dynamin-catalyzed Vesicle Scission. *Molecular Biology of the Cell* **20**: 4630–4639
- Ramachandran R, Surka M, Chappie JS, Fowler DM, Foss TR, Song BD & Schmid SL (2007) The dynamin middle domain is critical for tetramerization and higher-order self-assembly. *The EMBO Journal* **26**: 559–566
- Redgrove KA, Bernstein IR, Pye VJ, Mihalas BP, Sutherland JM, Nixon B, McCluskey A, Robinson PJ, Holt JE & McLaughlin EA (2016) Dynamin 2 is essential for mammalian spermatogenesis. *Scientific Reports* **6**: 35084

- Reems J-A, Wang W, Tsubata K, Abdurrahman N, Sundell B, Tijssen MR, van der Schoot E, Di Summa F, Patel-Hett S, Italiano J & Gilligan DM (2008) Dynamin 3 Participates in the Growth and Development of Megakaryocytes. *Experimental hematology* **36**: 1714–1727
- Reis CR, Chen P-H, Bendris N & Schmid SL (2017) TRAIL-death receptor endocytosis and apoptosis are selectively regulated by dynamin-1 activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **114**: 504–509
- Reis CR, Chen P-H, Srinivasan S, Aguet F, Mettlen M & Schmid SL (2015) Crosstalk between Akt/GSK3 $\beta$  signaling and dynamin-1 regulates clathrin-mediated endocytosis. *The EMBO Journal* **34**: 2132–2146
- Reubold TF, Faelber K, Plattner N, Posor Y, Ketel K, Curth U, Schlegel J, Anand R, Manstein DJ, Noé F, Haucke V, Daumke O & Eschenburg S (2015) Crystal structure of the dynamin tetramer. *Nature* **525**: 404–408
- Robinson MS (2015) Forty Years of Clathrin-coated Vesicles. *Traffic* **16**: 1210–1238 **Review**
- Romeu A & Arola L (2014) Classical dynamin DNM1 and DNM3 genes attain maximum expression in the normal human central nervous system. *BMC research notes* **7**: 188
- Salim K, Bottomley MJ, Querfurth E, Zvelebil MJ, Gout I, Scaife R, Margolis RL, Gigg R, Smith CI, Driscoll PC, Waterfield MD & Panayotou G (1996) Distinct specificity in the recognition of phosphoinositides by the pleckstrin homology domains of dynamin and Bruton's tyrosine kinase. *The EMBO Journal* **15**: 6241–6250
- Schlunck G, Damke H, Kiosses WB, Rusk N, Symons MH, Waterman-Storer CM, Schmid SL & Schwartz MA (2004) Modulation of Rac Localization and Function by Dynamin. *Molecular Biology of the Cell* **15**: 256–267
- Schmid SL (2017) Reciprocal regulation of signaling and endocytosis: Implications for the evolving cancer cell. *The Journal of Cell Biology* **216**: 2623–2632 **Review**
- Schmid SL, McNiven MA & De Camilli P (1998) Dynamin and its partners: a progress report. *Current Opinion in Cell Biology* **10**: 504–512
- Sesaki H, Southard SM, Yaffe MP & Jensen RE (2003) Mgm1p, a Dynamin-related GTPase, Is Essential for Fusion of the Mitochondrial Outer Membrane. *Molecular Biology of the Cell* **14**: 2342–2356
- Sever S, Muhlberg AB & Schmid SL (1999) Impairment of dynamin's GAP domain stimulates receptor-mediated endocytosis. *Nature* **398**: 481–486
- Shpetner HS & Vallee RB (1989) Identification of dynamin, a novel mechanochemical enzyme that mediates interactions between microtubules. *Cell* **59**: 421–432
- Sidiropoulos PNM, Mieke M, Bock T, Tinelli E, Oertli CI, Kuner R, Meijer D, Wollscheid B, Niemann A & Suter U (2012) Dynamin 2 mutations in Charcot–Marie–Tooth neuropathy highlight the importance of clathrin-mediated endocytosis in myelination. *Brain* **135**: 1395–1411

- Smirnova E, Griparic L, Shurland D-L & van der Blik AM (2001) Dynamin-related Protein Drp1 Is Required for Mitochondrial Division in Mammalian Cells. *Molecular Biology of the Cell* **12**: 2245–2256
- Sonnemann KJ, Fitzsimons DP, Patel JR, Liu Y, Schneider MF, Moss RL & Ervasti JM (2006) Cytoplasmic  $\gamma$ -Actin Is Not Required for Skeletal Muscle Development but Its Absence Leads to a Progressive Myopathy. *Developmental Cell* **11**: 387–397
- von Spiczak S, Helbig KL, Shinde DN, Huether R, Pendziwiat M, Lourenço C, Nunes ME, Sarco DP, Kaplan RA, Dlugos DJ, Kirsch H, Slavotinek A, Cilio MR, Cervenka MC, Cohen JS, McClellan R, Fatemi A, Yuen A, Sagawa Y, Littlejohn R, *et al.* (2017) DNM1 encephalopathy: A new disease of vesicle fission. *Neurology* **89**: 385–394
- Srinivasan S, Burckhardt CJ, Bhawe M, Chen Z, Chen P-H, Wang X, Danuser G & Schmid SL (2018) A noncanonical role for dynamin-1 in regulating early stages of clathrin-mediated endocytosis in non-neuronal cells. *PLOS Biology* **16**: e2005377
- Srinivasan S, Dharmarajan V, Reed DK, Griffin PR & Schmid SL (2016) Identification and function of conformational dynamics in the multidomain GTPase dynamin. *The EMBO Journal* **35**: 443–457
- Suraneni PK, Corey SJ, Hession MJ, Ishaq R, Awomolo A, Hasan S, Shah C, Liu H, Wickrema A, Debili N, Crispino JD, Eklund EA & Chen Y (2018) Dynamins 2 and 3 control the migration of human megakaryocytes by regulating CXCR4 surface expression and ITGB1 activity. *Blood Advances* **2**: 3540–3552
- Takahashi Y, Tsotakos N, Liu Y, Young MM, Serfass J, Tang Z, Abraham T & Wang H-G (2016) The Bif-1-Dynamin 2 membrane fission machinery regulates Atg9-containing vesicle generation at the Rab11-positive reservoirs. *Oncotarget* **7**: 20855–20868
- Tanabe K & Takei K (2009) Dynamic instability of microtubules requires dynamin 2 and is impaired in a Charcot-Marie-Tooth mutant. *The Journal of Cell Biology* **185**: 939–948
- Tanifuji S, Funakoshi-Tago M, Ueda F, Kasahara T & Mochida S (2013) Dynamin Isoforms Decode Action Potential Firing for Synaptic Vesicle Recycling. *The Journal of Biological Chemistry* **288**: 19050–19059
- Tasfaout H, Buono S, Guo S, Kretz C, Messaddeq N, Booten S, Greenlee S, Monia BP, Cowling BS & Laporte J (2017) Antisense oligonucleotide-mediated Dnm2 knockdown prevents and reverts myotubular myopathy in mice. *Nature Communications* **8**: 15661
- Tasfaout H, Lionello VM, Kretz C, Koebel P, Messaddeq N, Bitz D, Laporte J & Cowling BS (2018) Single Intramuscular Injection of AAV-shRNA Reduces DNM2 and Prevents Myotubular Myopathy in Mice. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy* **26**: 1082–1092
- Taylor MJ, Lampe M & Merrifield CJ (2012) A Feedback Loop between Dynamin and Actin Recruitment during Clathrin-Mediated Endocytosis. *PLoS Biology* **10**: e1001302
- Taylor MJ, Perrais D & Merrifield CJ (2011) A High Precision Survey of the Molecular Dynamics of Mammalian Clathrin-Mediated Endocytosis. *PLoS Biology* **9**: e1000604

- Thompson HM, Cao H, Chen J, Euteneuer U & McNiven MA (2004) Dynamin 2 binds  $\gamma$ -tubulin and participates in centrosome cohesion. *Nature Cell Biology* **6**: 335–342
- Thompson HM, Skop AR, Euteneuer U, Meyer BJ & McNiven MA (2002) The Large GTPase Dynamin Associates with the Spindle Midzone and Is Required for Cytokinesis. *Current Biology* **12**: 2111–2117
- Urrutia R, Henley JR, Cook T & McNiven MA (1997) The dynamins: Redundant or distinct functions for an expanding family of related GTPases? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**: 377–384 **Review**
- Vaid KS, Guttman JA, Babyak N, Deng W, McNiven MA, Mochizuki N, Finlay BB & Vogl AW (2007) The role of dynamin 3 in the testis. *Journal of Cellular Physiology* **210**: 644–654
- Wang L, Barylko B, Byers C, Ross JA, Jameson DM & Albanesi JP (2010) Dynamin 2 Mutants Linked to Centronuclear Myopathies Form Abnormally Stable Polymers. *The Journal of Biological Chemistry* **285**: 22753–22757
- Wang W, Gilligan DM, Sun S, Wu X & Reems J-A (2011) Distinct Functional Effects for Dynamin 3 During Megakaryocytopoiesis. *Stem Cells and Development* **20**: 2139–2151
- Warnock DE, Hinshaw JE & Schmid SL (1996) Dynamin Self-assembly Stimulates Its GTPase Activity. *Journal of Biological Chemistry* **271**: 22310–22314
- Warnock DE & Schmid SL (1996) Dynamin GTPase, a force-generating molecular switch. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology* **18**: 885–893 **Review**
- Wilmshurst JM, Lillis S, Zhou H, Pillay K, Henderson H, Kress W, Müller CR, Ndondo A, Cloke V, Cullup T, Bertini E, Boennemann C, Straub V, Quinlivan R, Dowling JJ, Al-Sarraj S, Treves S, Abbs S, Manzur AY, Sewry CA, *et al.* (2010) RYR1 mutations are a common cause of congenital myopathies with central nuclei. *Annals of Neurology* **68**: 717–726
- Wu Y, O'Toole ET, Girard M, Ritter B, Messa M, Liu X, McPherson PS, Ferguson SM & De Camilli P (2014) A dynamin 1-, dynamin 3- and clathrin-independent pathway of synaptic vesicle recycling mediated by bulk endocytosis. *eLife* **3**: e01621
- Yamada H, Abe T, Satoh A, Okazaki N, Tago S, Kobayashi K, Yoshida Y, Oda Y, Watanabe M, Tomizawa K, Matsui H & Takei K (2013) Stabilization of Actin Bundles by a Dynamin 1/Cortactin Ring Complex Is Necessary for Growth Cone Filopodia. *Journal of Neuroscience* **33**: 4514–4526
- Yang Z, Li H, Chai Z, Fullerton MJ, Cao Y, Toh B-H, Funder JW & Liu J-P (2001) Dynamin II Regulates Hormone Secretion in Neuroendocrine Cells. *Journal of Biological Chemistry* **276**: 4251–4260
- Yarar D, Waterman-Storer CM & Schmid SL (2005) A Dynamic Actin Cytoskeleton Functions at Multiple Stages of Clathrin-mediated Endocytosis. *Molecular Biology of the Cell* **16**: 964–975

- Zhang PJ & Hinshaw JE (2001) Three-dimensional reconstruction of dynamin in the constricted state. *Nature Cell Biology* **3**: 922–926
- Zhang Z, Chen C, Guo W, Zheng S, Sun Z & Geng X (2016) DNM3 Attenuates Hepatocellular Carcinoma Growth by Activating P53. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research* **22**: 197–205
- Zhao M, Maani N & Dowling JJ (2018) Dynamin 2 (DNM2) as Cause of, and Modifier for, Human Neuromuscular Disease. *Neurotherapeutics* **15**: 966–975 **Review**
- Zheng J, Cahill SM, Lemmon MA, Fushman D, Schlessinger J & Cowburn D (1996) Identification of the Binding Site for Acidic Phospholipids on the PH Domain of Dynamin: Implications for Stimulation of GTPase Activity. *Journal of Molecular Biology* **255**: 14–21
- Züchner S, Nouredine M, Kennerson M, Verhoeven K, Claeys K, Jonghe PD, Merory J, Oliveira SA, Speer MC, Stenger JE, Walizada G, Zhu D, Pericak-Vance MA, Nicholson G, Timmerman V & Vance JM (2005) Mutations in the pleckstrin homology domain of dynamin 2 cause dominant intermediate Charcot-Marie-Tooth disease. *Nature Genetics* **37**: 289–294